sartorius stedim biotech

**Mode d'emploi**

# BioPAT® Trace

Analyseur en ligne à 2 canaux

85032-541-55

Vers. 04 | 2013

**Remarque importante :**
Les données et informations contenues dans ce manuel ont été compilées avec le plus grand soin. Malgré le soin extrême apporté à la réalisation de ce document, il ne peut pas être garanti qu'il ne s'y trouve absolument aucune erreur. Si des informations importantes pour vous manquent dans ce manuel, si vous y trouvez des erreurs ou si vous souhaitez de plus amples informations sur certains composants, veuillez nous en faire part.
Toute réimpression, traduction ou reproduction, même partielle, sous quelque forme que ce soit, est interdite sans autorisation écrite de la société Sartorius Stedim Biotech GmbH.

Adresse de la documentation technique :

Sartorius Stedim Biotech GmbH
Technische Redaktion
August-Spindler-Strasse 11
37079 Goettingen, Allemagne
E-mail : tech.pubs@sartorius-stedim.com
Internet : www.sartorius-stedim.com

# Table des matières


Index des illustrations . . . . . 7
Index des tableaux . . . . . 10
Explication des symboles . . . . . 10

**1. Introduction** . . . . . 11

**2. Description de BioPAT® Trace** . . . . . 12
2.1 Principes de base de la technique de mesure électrochimique . . . . . 13
2.2 Technologie des biocapteurs . . . . . 14
2.3 Fluidique et prélèvement d'échantillon . . . . . 15
2.4 Transfert et enregistrement des données . . . . . 17

**3. Consignes de sécurité générales** . . . . . 18

**4. Contenu de la livraison, accessoires et consommables** . . . . . 20
4.1 Contenu de la livraison . . . . . 20
4.2 Consommables . . . . . 20
4.2.1 Sets de tuyaux . . . . . 20
4.2.2 Concentrés de tampon . . . . . 20
4.2.3 Désinfectant . . . . . 21
4.2.4 Étalons (quantité: 0,5 litre) . . . . . 21
4.2.5 Membranes . . . . . 22
4.3 Sondes de prélèvement . . . . . 22
4.3.1 Sonde de dialyse (livraison avec kit d'insertion, 2 membranes et mode d'emploi) . . . . . 22
4.3.2 Sonde de dialyse à usage unique (livraison avec mode d'emploi) . . . 22
4.3.3 Sondes de filtration (livraison avec kit d'insertion, 1 membrane et mode d'emploi) . . . . . 23
4.4 Accessoires pour les sondes de prélèvement . . . . . 23
4.4.1 Accessoires pour la sonde de dialyse . . . . . 23
4.4.2 Accessoires pour la sonde de filtration . . . . . 23
4.4.3 Accessoires pour les sondes de dialyse et de filtration . . . . . 24
4.5 Accessoires pour BioPAT® Trace . . . . . 24

**5. Composition et fonctions** . . . . . 25
5.1 Composition de l'appareil . . . . . 25
5.2 Méthodes de mesure de BioPAT® Trace . . . . . 29
5.2.1 Méthode de mesure Dialyse avec la sonde de dialyse . . . . . 31
5.2.2 Méthode de mesure Filtration avec la sonde de filtration . . . . . 33
5.3 Fonction de la cellule de mesure . . . . . 34
5.4 Fonction du filtre à particules . . . . . 35
5.5 Fonction du module de diffusion . . . . . 36
5.6 Fonction de la sonde de dialyse . . . . . 37
5.7 Fonction de la sonde de filtration . . . . . 38
5.8 Fonction du réacteur enzymatique . . . . . 39
5.9 Correction de la température . . . . . 39

**6. Mise en service** . . . . . 40
6.1 Transport . . . . . 40
6.2 Installation . . . . . 40
6.2.1 Installation de l'appareil . . . . . 40
6.2.2 Raccordement des tuyaux de l'appareil . . . . . 42
6.2.3 Montage du set de tuyaux Filtration . . . . . 45
6.2.4 Montage du set de tuyaux pour le mode de fonctionnement Dialyse . . . . . 51
6.2.5 Connexion et déconnexion du réacteur enzymatique . . . . . 52
6.2.6 Raccordement de la sonde de dialyse . . . . . 55
6.2.6.1 Montage de la membrane de dialyse dans la sonde de dialyse . . . . . 55
6.2.6.2 Installation de la sonde de dialyse dans le bioréacteur . . . . 58
6.2.6.3 Stérilisation de la sonde de dialyse avant le raccordement à BioPAT® Trace . . . . . 58
6.2.6.4 Raccordement de la sonde de dialyse au set de tuyaux . . . . 60
6.2.6.5 Nettoyage de la sonde de dialyse et changement de la membrane . . . . . 61

6.2.7 Raccordement de la sonde de filtration . . . . . 62
6.2.7.1 Description du dispositif . . . . . 64
6.2.7.2 Accessoires optionnels . . . . . 65
6.2.7.3 Montage de la sonde de filtration . . . . . 66
6.2.7.4 Hydrophilisation de la membrane en polypropylène . . . . . 68
6.2.7.5 Contrôle de fuite . . . . . 68
6.2.7.6 Utilisation du set d'hydrophilisation . . . . . 69
6.2.7.6.1 Description du dispositif. . . . . 70
6.2.7.6.2 Réalisation de l'hydrophilisation . . . . . 70
6.2.7.6.3 Réalisation du contrôle de fuite . . . . . 72
6.2.7.6.4 Régénération de la sonde de filtration après la fermentation . . . . . 73
6.2.7.7 Installation dans le bioréacteur . . . . . 74
6.2.7.8 Stérilisation en ligne de la sonde de filtration . . . . . 75
6.2.7.9 Raccordement de la sonde de filtration au set de tuyaux . . 76
6.3 Téléchargement du logiciel et connexion réseau . . . . . 77
6.3.1 Elimination des problèmes . . . . . 80
6.4 Installation du logiciel PC . . . . . 81
6.5 Modification des réglages de démarrage . . . . . 81
6.6 Affectation des sorties analogiques . . . . . 82
6.7 Mise en service de l'appareil . . . . . 83
6.8 Mise hors service . . . . . 84

**7. Fonctionnement** . . . . . 85
7.1 Barre de menu . . . . . 92
7.1.1 Commande du menu « File » (Fichier) . . . . . 92
7.1.2 Commande du menu « Appareil » . . . . . 93
7.1.2.1 Connecter . . . . . 93
7.1.2.2 Mise en service . . . . . 95
7.1.2.3 Stop . . . . . 95
7.1.3 Commande du menu « Ecran » . . . . . 97
7.1.3.1 Options de l'écran . . . . . 99
7.1.4 Commande du menu « Réglages » . . . . . 101
7.1.4.1 Paramètres . . . . . 102
7.1.4.2 Réglages de base . . . . . 106
7.1.4.3 Langue . . . . . 107
7.1.5 Option du menu Information . . . . . 107
7.2 Messages d'état des LED . . . . . 108

**8. Conseils et liste de contrôle** . . . . . 109
8.1 Sélection des solutions étalons adaptées . . . . . 109
8.2 Mode Dialyse : référencement au début d'une fermentation . . . . . 109
8.3 Mode Dialyse : référencement avec de faibles concentrations de lactate . . . . . 110
8.4 Eviter des contaminations dans le set de tuyaux . . . . . 111
8.5 Importation des données vers Excel . . . . . 112

**9. Aide en cas d'erreurs** . . . . . 119

**10. Entretien** . . . . . 124
10.1 Appareil . . . . . 124
10.2 Set de tuyaux . . . . . 124

**11. Annexe** . . . . . 125
11.1 Fiche technique . . . . . 125

**Index des illustrations**


Illustration 1 : Transformation enzymatique de glucose avec oxydation anodique parallèle de $H_2O_2$ . . . . . 14
Illustration 2 : Transformation enzymatique de lactate avec oxydation anodique parallèle de $H_2O_2$ . . . . . 14
Illustration 3 : Transformation enzymatique de méthanol | éthanol avec oxydation anodique parallèle de $H_2O_2$. . . . . 15
Illustration 4 : Principe de la technique de diffusion fluidique. . . . . 16
Illustration 5 : Schéma d'écoulement expliquant l'analyse de diffusion fluidique . . 17
Illustration 6 : Vue de face de BioPAT® Trace avec les composants suivants . . . . . 25
Illustration 7 : Vue latérale de BioPAT® Trace avec les composants suivants . . . . . 26
Illustration 8 : Vue arrière de BioPAT® Trace avec les éléments suivants . . . . . 27
Illustration 9 : Principe d'alimentation en échantillon via la sonde de dialyse sur le BioPAT® Trace. . . . . 30
Illustration 10 : Schéma de la méthode de dialyse en ligne. . . . . 31
Illustration 11 : Schéma de la méthode de filtration en ligne. . . . . 33
Illustration 12 : Cellule de mesure avec ligne de rinçage. . . . . 34
Illustration 13 : Schéma et fixation du module de diffusion. . . . . 36
Illustration 14 : Principe de fonctionnement de la sonde de dialyse . . . . . 37
Illustration 15 : Sonde de filtration pour le prélèvement stérile d'échantillon dans des bioréacteurs . . . . . 38
Illustration 16 : Réacteur enzymatique pour AOD . . . . . 39
Illustration 17 : Vue d'un set de tuyaux pour le mode de fonctionnement Filtration. . 42
Illustration 18 : Vue de la face avant avec tous les tuyaux installés pour le mode de fonctionnement Filtration . . . . . 45
Illustration 19 : Insertion et tension de la paire de tuyaux dans les plaques de guidage. . . . . 45
Illustration 20 : Positionnement des tuyaux des vannes sur l'appareil. . . . . 46
Illustration 21 : Insertion et tension de la paire de tuyaux . . . . . 46
Illustration 22 : Insertion et tension de la paire de tuyaux . . . . . 46
Illustration 23 : Fixation des tuyaux des vannes en rapprochant les plaques de guidage l'une de l'autre . . . . . 47
Illustration 24 : Mise en place de la cassette de la pompe inférieure P2 et de la cassette de la pompe supérieure P1 . . . . . 47
Illustration 25 : Mise en place de la cassette de la pompe inférieure P2 et de la cassette de la pompe supérieure P1 . . . . . 47
Illustration 26 : Fixation correcte de la cassette de la pompe (tourillon de fixation enclenché). . . . . 48

Illustration 27 : Face latérale avec toutes les installations. . . . . 48
Illustration 28 : Mise en place de la cellule de mesure sur l'appareil . . . . . 49
Illustration 29 : Fixation de la cellule de mesure sur l'appareil . . . . . 49
Illustration 30 : Fixation du module de diffusion sur la barre de fixation . . . . . 50
Illustration 31 : Mise en place des chambres compte-gouttes dans le support . . . . . 50
Illustration 32 : Emplacement du robinet à 3 voies . . . . . 51
Illustration 33 : Robinet à 3 voies et seringue installés . . . . . 52
Illustration 34 : Emplacement du réacteur enzymatique. . . . . 53
Illustration 35 : Fixation du réacteur enzymatique. . . . . 53
Illustration 36 : Réacteur enzymatique installé. . . . . 54
Illustration 37 : Changement de la membrane dans la sonde de dialyse pour l'application Glucose | lactate . . . . . 55
Illustration 38 : Insertion de la membrane . . . . . 56
Illustration 39 : Montage de la monture de la sonde . . . . . 56
Illustration 40 : Fixation des 2 vis. . . . . 56
Illustration 41 : Insertion de la rondelle de glissement et du joint torique . . . . . 58
Illustration 42 : Remplissage de la sonde avec de la solution tampon . . . . . 58
Illustration 43 : Fermeture de la sonde avant la stérilisation . . . . . 58
Illustration 44 : Raccordement de la sonde de dialyse au set de tuyaux . . . . . 60
Illustration 45 : Raccordement de la sonde de dialyse au set de tuyaux . . . . . 60
Illustration 46 : Sonde de filtration avec deux membranes de différente longueur. . 63
Illustration 47 : Eléments de la sonde de filtration à installer dans le port du couvercle de 12 mm avec presse-étoupe de 13,5 . . . . . 64
Illustration 48 : Sonde de filtration avec adaptateur M26x1 . . . . . 65
Illustration 49 : Sonde de filtration avec adaptateur RD 28×1/8" . . . . . 65
Illustration 50 : Insertion de la ferrule. . . . . 66
Illustration 51 : Installation de la membrane en polypropylène. . . . . 66
Illustration 52 : Insertion du joint torique. . . . . 67
Illustration 53 : Fixation de l'écrou-raccord . . . . . 67
Illustration 54 : Set d'hydrophilisation avec la cassette de la pompe et les tuyaux . . 70
Illustration 55 : Montage et raccordement du set d'hydrophilisation . . . . . 70
Illustration 56 : Page de démarrage Filtration avec panneau pour la commande de la pompe pour l'hydrophilisation. . . . . 71
Illustration 57 : Sonde de filtration avec set de tuyaux. . . . . 76
Illustration 58 : Raccordement du set de tuyaux . . . . . 76
Illustration 59 : Connexion pour les réglages de réseau. . . . . 78
Illustration 60 : Champ de saisie pour le réglage du réseau . . . . . 79
Illustration 61 : Réglages de démarrage. . . . . 81

Illustration 62 : Sorties analogiques . . . . . 82
Illustration 63 : Page de démarrage avec indication des zones de sélection et d'affichage . . . . . 85
Illustration 64 : Démarrage automatique . . . . . 86
Illustration 65 : Affichage en mode « En attente » . . . . . 87
Illustration 66 : Affichage après la mesure de référence . . . . . 88
Illustration 67 : Demande de prélèvement d'un échantillon et connexion au robinet à 3 voies . . . . . 90
Illustration 68 : Raccordement de l'échantillon externe . . . . . 90
Illustration 69 : Position correcte du robinet à 3 voies . . . . . 91
Illustration 70 : Options du menu « File » (Fichier) . . . . . 92
Illustration 71 : Options du menu « Appareil » . . . . . 93
Illustration 72 : Connexion de l'appareil . . . . . 94
Illustration 73 : Affichage de la connexion . . . . . 94
Illustration 74 : Rechercher dans le réseau . . . . . 95
Illustration 75 : Fenêtre avec question lors du redémarrage après « Stop ». . . . . 96
Illustration 76 : Options du menu « Ecran » . . . . . 97
Illustration 77 : Affichage des valeurs de calibrage actuelles . . . . . 98
Illustration 78 : Affichage de la barre d'état . . . . . 98
Illustration 79 : Affichage d'adaptation de la représentation des valeurs mesurées 99
Illustration 80 : Affichage de la courbe de la valeur mesurée . . . . . 100
Illustration 81 : Options du menu « Réglages » . . . . . 101
Illustration 82 : Champ de saisie du réglage des paramètres de mesure . . . . . 102
Illustration 83 : Commutation de la sortie analogique . . . . . 105
Illustration 84 : Champ de saisie des réglages de base . . . . . 106
Illustration 85 : Fenêtre de sélection de la langue . . . . . 107
Illustration 86 : Importation des données du fichier ptd dans Excel. Activez « Tous les fichiers ». . . . . 112
Illustration 87 : Importation des données du fichier ptd dans Excel « Sélection du fichier ptd » . . . . . 113
Illustration 88 : Importation des données du fichier ptd dans Excel, assistant de conversion de texte, étape 1 . . . . . 113
Illustration 89 : Importation des données du fichier ptd dans Excel, assistant de conversion de texte, étape 2 . . . . . 114
Illustration 90 : Importation des données du fichier ptd dans Excel, assistant de conversion de texte, étape 3 . . . . . 114
Illustration 91 : Importation des données du fichier ptd dans Excel « Autres réglages d'importation de texte » . . . . . 115

**Index des tableaux**


Tableau 1 : Contenu de la livraison de BioPAT® Trace . . . . . 20
Tableau 2 : Consommables pour BioPAT® Trace . . . . . 22
Tableau 3 : Sondes de prélèvement pour BioPAT® Trace . . . . . 23
Tableau 4 : Accessoires pour les sondes de prélèvement . . . . . 24
Tableau 5 : Accessoires pour BioPAT® Trace . . . . . 24
Tableau 6 : Messages d'état des LED . . . . . 108
Tableau 7 : Liste de contrôle pour la mise en service . . . . . 118
Tableau 8 : Description et élimination des problèmes sur BioPAT® Trace . . . . . 121
Tableau 9 : Erreurs de calibrage et remèdes . . . . . 123
Tableau 10 : Fiche technique . . . . . 125


**Explication des symboles**

**Informations supplémentaires et conseils d'utilisation utiles.**

**Mise en garde contre de possibles dommages consécutifs.**

**Danger électrique.**

**Substances nocives ou irritantes.**

# 1. Introduction

BioPAT® Trace est un analyseur en ligne à 2 canaux destiné à mesurer le taux de glucose et de L-lactate. Il peut être utilisé dans des processus de fermentation microbienne ainsi que lors de la culture de lignes de cellules animales ou humaines.

Lors de l'analyse de substrat dans des milieux de culture, il est nécessaire que l'échantillon soit prélevé du bioréacteur (fermenteur) dans des conditions stériles tout en conservant la reproductibilité et la pertinence de l'échantillon prélevé. Les possibilités de prélèvement suivantes sont actuellement disponibles pour le BioPAT® Trace : sonde de filtration et sonde de dialyse. Ces systèmes permettent d'effectuer un prélèvement parfaitement stérile dans le bioréacteur.

L'analyseur BioPAT® Trace est composé d'un boîtier compact qui est adapté à l'utilisation prévue et aux conditions ambiantes. Tous les éléments mécaniques et fluidiques sont disposés sur la face avant et sur l'un des côtés. L'électronique est modulaire et communique via différentes interfaces.

L'analyse est effectuée à l'aide d'une unité de capteur qui est composée d'un biocapteur électrochimique. La commande du système et l'analyse des données s'effectuent avec un ordinateur externe. Le logiciel de commande fourni est caractérisé par une grande convivialité.

# 2. Description de BioPAT® Trace

L'analyseur BioPAT® Trace sert au contrôle en ligne simultané des analytes glucose et lactate dans des cultures en laboratoire ou industrielles de microorganismes et de lignées cellulaires.

La mesure de l'éthanol ou du méthanol est une autre application disponible.

Indépendamment du type de culture (batch, fed-batch, culture continue), il est possible d'effectuer une analyse continue avec le système BioPAT® Trace.

La plage de mesure du BioPAT® Trace va de 0,1 à 40 g/l pour le glucose, de 0,05 à 10 g/l pour le lactate, de 0,5 à 20 g/l pour le méthanol et de 1 à 40 g/l pour l'éthanol.
La fréquence de mesure est d'au maximum 60 analyses par heure en fonction des conditions.
En raison de la conception structurée et du concept d'utilisation facile, seule une brève initiation au fonctionnement du système suffit avant d'effectuer des analyses de routine.

Grâce au dispositif interne de correction de la température dont il est équipé, l'analyseur BioPAT® Trace peut être utilisé à une température ambiante comprise entre 15 et 35°C. L'humidité ambiante ne doit pas dépasser 90 %.

L'analyse dans le BioPAT® Trace combine une transformation enzymatique et une détection électrochimique. Une électrode enzymatique à 2 canaux recouverte d'oxydases ou la combinaison d'un

réacteur enzymatique avec une électrode en platine (application méthanol | éthanol) servent de biocapteur.
Selon l'application, le fonctionnement du système de capteurs est garanti durer 30 jours ou 5000 mesures. L'écart par rapport à la valeur mesurée moyenne est inférieur à 3 % lors d'une mesure de 5 g/l de glucose ou de 2,5 g/l de lactate.

### 2.1 Principes de base de la technique de mesure électrochimique

Un détecteur électrochimique sert à mesurer un courant qui est produit par l'analyte dans une cellule de mesure de débit en présence d'un certain potentiel appliqué sur les électrodes. En présence d'une solution d'électrolyte, la transformation électrochimique de la substance de l'électrode de travail entraîne une émission ou une capture d'électrons (oxydation ou réduction). La grandeur du courant limite mesurable dépend à la fois de paramètres de la loi de Faraday de l'électrolyse et de la loi de diffusion de Fick et est proportionnelle à la concentration.

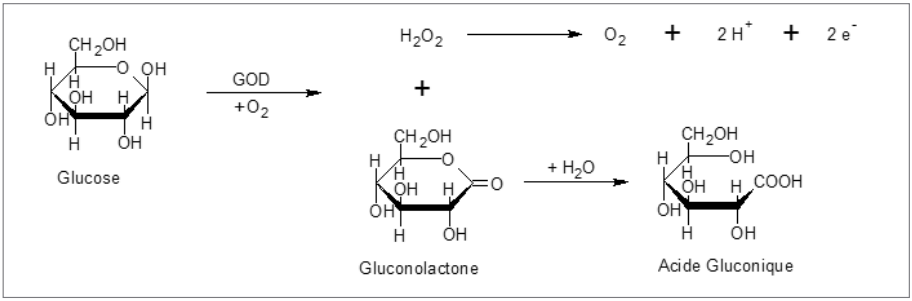
La sélectivité de ce détecteur sensible repose sur le fait que toutes les substances ne présentent pas une activité électrochimique et que par conséquent beaucoup de substances parasites ne sont pas détectées dans une substance échantillon. La sélectivité dépend du matériau de l'électrode de travail et du potentiel appliqué.

Pour augmenter encore la sélectivité d'un capteur électrochimique, il est possible d'utiliser une combinaison avec des enzymes : l'électrode devient ainsi un biocapteur.

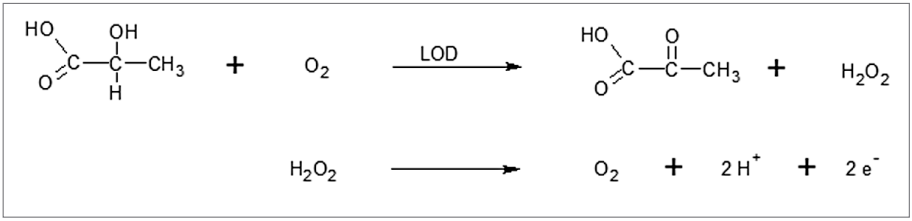
## 2.2 Technologie des biocapteurs

Les analytes glucose et lactate sont détectés à l'aide de réactions enzymatiques. La transformation enzymatique de glucose en gluconolactone est représentée sur l'illustration 1. En présence d'eau, l'hydrolyse de gluconolactone en acide gluconique a lieu immédiatement. Le peroxyde d'hydrogène ($H_2O_2$) produit au cours de la première étape est détecté de manière ampérométrique par une oxydation anodique qui libère deux électrons. L'illustration 2 montre la transformation enzymatique de lactate en pyruvate. Au cours de cette réaction, du $H_2O_2$ est également formé et ensuite détecté de manière ampérométrique.

Les réactions enzymatiques se produisent selon le « principe de clef-et-serrure ». Elles sont spécifiques et ainsi hautement sélectives. La réaction sur le système enzymatique est donc une autre sélection. La combinaison des deux principes sélectifs rend l'analyseur BioPAT® Trace largement insensible aux effets de matrice et aux substances parasites.

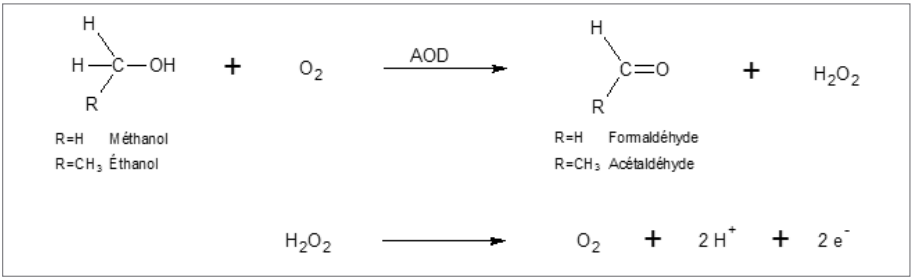



III. 1 : Transformation enzymatique de glucose avec oxydation anodique parallèle de $H_2O_2$




III. 2 : Transformation enzymatique de lactate avec oxydation anodique parallèle de $H_2O_2$

Les capteurs BioPAT® Trace sont composés d'électrodes en platine qui forment une couche épaisse et qui sont recouvertes des enzymes correspondantes (glucose oxydase (GOD) ou lactate oxydase (LOD)) d'une manière stable dans le temps. L'enzyme et l'électrode se trouvent donc à proximité immédiate l'une de l'autre si bien que les réactions décrites ci-dessus peuvent être directement enregistrées.




Ill. 3 : Transformation enzymatique de méthanol | éthanol avec oxydation anodique parallèle de $H_2O_2$

L'illustration 3 représente la transformation enzymatique de méthanol ou d'éthanol en formaldéhyde ou en acétaldéhyde. L'enzyme alcool oxydase (AOD) qui se trouve dans un réacteur enzymatique sous forme immobilisée sert de catalyseur. Le péroxyde d'hydrogène ($H_2O_2$) qui se forme lors de la réaction est détecté de manière ampéro-métrique. Avec cette méthode, l'alcool est transformé dans le réacteur enzymatique et la détection du péroxyde d'hydrogène qui s'est formé a lieu sur une électrode en platine.

### 2.3 Fluidique et prélèvement d'échantillon

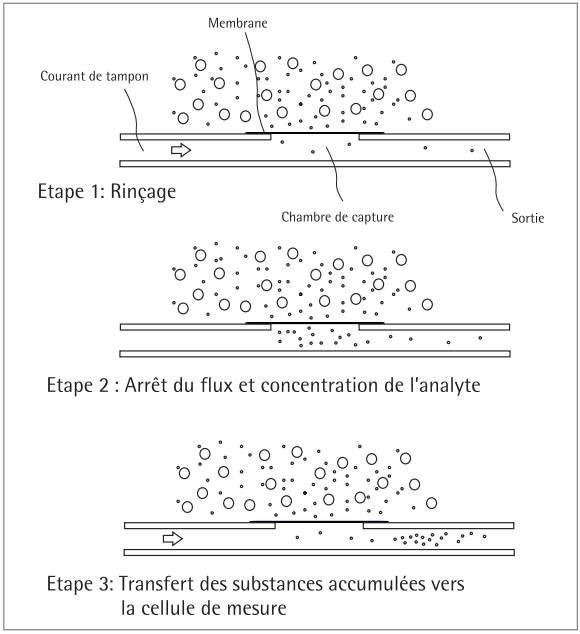
Pour analyser un échantillon, il faut que la matière représentative soit transportée jusqu'au biocapteur. Pour cela, on utilise un système fluidique (set de tuyaux) composé de tuyaux, de pompes et de vannes. De plus, l'échantillon est conditionné dans le système fluidique, c'est-à-dire qu'il est libéré des composants potentiellement parasites et dilué de manière à pouvoir être enregistré de manière sûre à l'aide des biocapteurs hautement sensibles. Pour cela, une séparation est effectuée avec une membrane de dialyse qui est intégrée comme module de diffusion dans chaque set de tuyaux.

Le conditionnement de l'échantillon repose sur le procédé de l'analyse de diffusion fluidique (ill. 4). Cette méthode fonctionne avec un transfert d'échantillon en fonction du temps. A cet effet, la ligne de mesure et l'échantillon ou l'arrivée

d'échantillon sont séparés l'un de l'autre par une membrane. La ligne de mesure est appelée accepteur et le côté de l'échantillon donneur.

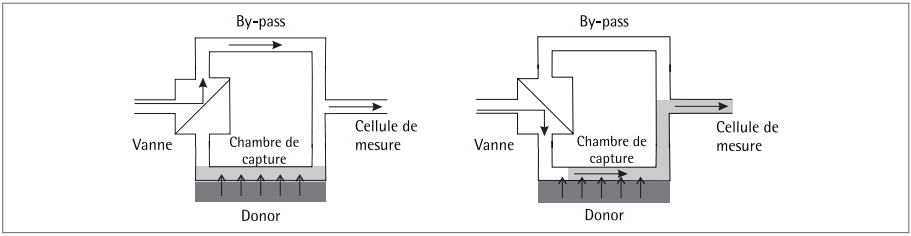
Au cours d'une analyse, la ligne de mesure est rincée par un tampon de transfert qui en tant que courant accepteur peut être arrêté derrière la membrane pendant une durée définie. Ce processus s'effectue par la commutation d'une vanne qui ouvre une ligne by-pass.

Pendant ce temps, les analytes qui se trouvent dans l'échantillon se diffusent à travers la membrane et se concentrent dans la chambre de capture. Avec le temps, il se produit donc une concentration croissante des composants dialysables dans le segment de liquide du tampon de transfert.


Membrane
Courant de tampon
Etape 1: Rinçage
Chambre de capture
Sortie
Etape 2 : Arrêt du flux et concentration de l'analyte
Etape 3: Transfert des substances accumulées vers la cellule de mesure

Ill. 4 : Principe de la technique de diffusion fluidique

Quand ce segment est libéré par la commutation des vannes, il s'écoule vers la cellule de mesure où il génère un signal. L'intensité du signal représente la mesure de la concentration de l'échantillon. La très large gamme de mesure obtenue par la variation du temps de diffusion et la protection des capteurs contre les composants parasites présents dans l'échantillon sont les deux énormes avantages de cette méthode de concentration.




Ill. 5 : Schéma d'écoulement expliquant l'analyse de diffusion fluidique

Schéma de gauche : Commutation de la vanne pendant la détermination de la ligne de base et lors de la charge.
Schéma de droite : Commutation pendant la décharge et la détection du signal.

### 2.4 Transfert et enregistrement des données

Diverses sorties permettent de connecter de manière très flexible l'analyseur BioPAT® Trace à des systèmes d'enregistrement des données. Outre une sortie analogique standard pour les signaux de 0..20 mA, 0..10 V ou de 4..20 mA, le BioPAT® Trace est équipé d'un port Ethernet qui permet de connecter l'appareil à un PC via un réseau. Grâce au logiciel fourni, il est possible de représenter les résultats de mesure sous la forme de graphiques et de les enregistrer (voir le chapitre ▶« 7. Fonctionnement » à la page 84).

# 3. Consignes de sécurité générales

L'analyseur BioPAT® Trace a été conçu et fabriqué en tenant compte d'une analyse des risques et selon une sélection minutieuse des normes harmonisées à respecter ainsi que d'autres spécifications techniques. L'appareil répond par conséquent à l'état de la technique et garantit une sécurité maximale.

Dans la pratique, il n'est toutefois possible d'atteindre ce niveau de sécurité qu'en prenant toutes les mesures nécessaires. Il relève de l'obligation de vigilance de l'exploitant de planifier ces mesures et de contrôler leur exécution.

L'exploitant doit notamment s'assurer que
- le BioPAT® Trace est utilisé uniquement de manière conforme (cf. le chapitre ▶« 2. Description de BioPAT® Trace » à la page 12),
- le BioPAT® Trace fonctionne uniquement quand il est dans un état irréprochable et en état de marche,
- le mode d'emploi est toujours parfaitement lisible et disponible dans son intégralité sur le lieu d'utilisation,
- seuls des membres suffisamment qualifiés du personnel entretiennent et réparent le BioPAT® Trace.

Les symboles utilisés dans ce mode d'emploi sont avant tout destinés à attirer l'attention sur les consignes de sécurité ! Les symboles utilisés ne peuvent pas remplacer le texte des consignes de sécurité.
Le texte doit toujours être lu dans son intégralité !

**Informations supplémentaires et conseils d'utilisation utiles.**

**Mise en garde contre de possibles dommages consécutifs.**

**Danger électrique.**

**Substances nocives ou irritantes.**

# 4. Contenu de la livraison, accessoires et consommables

### 4.1 Contenu de la livraison

| Description | Référence |
|---|---|
| Appareil BioPAT®Trace avec bloc d'alimentation, fiches secteur (Europe, USA, Royaume-Uni), câble Ethernet croisé, mode d'emploi et logiciel PC (trace_mon) | BPT0001 |

Tableau 1 : Contenu de la livraison de BioPAT® Trace

### 4.2 Consommables

#### 4.2.1 Sets de tuyaux

| Description | Référence |
|---|---|
| Set de tuyaux dialyse (glucose \| lactate) | BPT0003 |
| Set de tuyaux filtration (glucose \| lactate) | BPT0004 |
| Set de tuyaux filtration (glucose \| lactate \| résistants à la cellulase) | BPT0005 |
| Set de tuyaux dialyse (éthanol \| méthanol) | BPT0050 |
| Set de tuyaux filtration (éthanol \| méthanol) | BPT0049 |
| Réacteur enzymatique pour l'application éthanol \| méthanol | BPT0048 |

#### 4.2.2 Concentrés de tampon

| Description | Référence |
|---|---|
| Concentré de tampon 20× (pour cultures cellulaires), application glucose \| lactate ; quantité : 0,5 litre | BPT0006 |
| Concentré de tampon 5× (pour cultures microbiennes), application glucose \| lactate ; quantité : 1 litre | BPT0060 |
| Concentré de tampon 5×, application éthanol/méthanol ; quantité : 1 litre | BPT0046 |

### 4.2.3 Désinfectant

| Description | Référence |
|---|---|
| Concentré désinfectant, quantité : 1 litre | BPT0044 |

### 4.2.4 Étalons (quantité : 0,5 litre)

| Description | Référence |
|---|---|
| Étalon 0,1 g/l glucose, 0,05 g/l lactate | BPT0043 |
| Étalon 0,5 g/l glucose, 0,25 g/l lactate | BPT0011 |
| Étalon 1 g/l glucose, 0,5 g/l lactate | BPT0010 |
| Étalon 2 g/l glucose, 1 g/l lactate | BPT0009 |
| Étalon 4 g/l glucose, 2 g/l lactate | BPT0008 |
| Étalon 10 g/l glucose, 5 g/l lactate | BPT0007 |
| Étalon 20 g/l glucose, 10 g/l lactate | BPT0041 |
| Étalon 0,2 g/l méthanol | BPT0051 |
| Étalon 1 g/l méthanol | BPT0052 |
| Étalon 5 g/l méthanol | BPT0053 |
| Étalon 20 g/l méthanol | BPT0054 |
| Étalon 0,5 g/l éthanol | BPT0058 |
| Étalon 2 g/l éthanol | BPT0057 |
| Étalon 4 g/l éthanol | BPT0056 |
| Étalon 40 g/l éthanol | BPT0055 |

### 4.2.5 Membranes

| Description | Référence |
|---|---|
| Membranes (glucose \| lactate) pour la sonde de dialyse (quantité : 5 unités) | BPT0024 |
| Membranes (glucose \| lactate \| résistants à la cellulase) pour la sonde de dialyse (quantité : 5 unités) | BPT0040 |
| Membranes (éthanol \| méthanol) pour la sonde de dialyse (quantité : 5 unités) | BPT0047 |
| Membrane pour la sonde de filtration, longueur : 130 mm | BPT0025 |
| Membrane pour la sonde de filtration, longueur : 90 mm | BPT0037 |

Tableau 2 : Consommables pour BioPAT® Trace

## 4.3 Sondes de prélèvement

### 4.3.1 Sondes de dialyse (livraison avec kit d'insertion, 2 membranes et mode d'emploi)

| Description | Référence |
|---|---|
| Sonde de dialyse, longueur : 132 mm | BPT0014 |
| Sonde de dialyse, longueur : 165 mm | BPT0015 |
| Sonde de dialyse, longueur : 212 mm | BPT0016 |
| Sonde de dialyse, longueur : 232 mm | BPT0017 |
| Sonde de dialyse, longueur : 332 mm | BPT0018 |
| Sonde de dialyse, longueur : 362 mm | BPT0019 |
| Sonde de dialyse, longueur : 432 mm | BPT0020 |

### 4.3.2 Sonde de dialyse à usage unique (livraison avec mode d'emploi)

| Description | Référence |
|---|---|
| Sonde de dialyse à usage unique ContiTRACE | BPT0002 |

### 4.3.3 Sondes de filtration (livraison avec kit d'insertion, 1 membrane et mode d'emploi)

| Description | Référence |
|---|---|
| Sonde de filtration pour le port du couvercle de 12 mm avec raccord de serrage PG13,5, longueur de la membrane 130 mm | BPT0021 |
| Sonde de filtration pour le port du couvercle de 12 mm avec raccord de serrage PG13,5 (profondeur d'installation augmentée de 10 cm), longueur de la membrane 130 mm | BPT0022 |
| Sonde de filtration pour le port latéral de 25 mm avec robinet d'arrêt, longueur de la membrane 130 mm | BPT0023 |
| Sonde de filtration pour le port latéral de 25 mm avec robinet d'arrêt, longueur de la membrane 90 mm | BPT0036 |

Tableau 3 : Sondes de prélèvement pour BioPAT® Trace

## 4.4 Accessoires pour les sondes de prélèvement

### 4.4.1 Accessoires pour la sonde de dialyse

| Description | Référence |
|---|---|
| Kit d'insertion pour la sonde de dialyse | BPT0045 |
| Adaptateur 25/12 mm pour l'installation de la sonde de dialyse de 165 mm dans le port latéral de 25 mm (raccord Ingold de 52 mm) avec joints toriques | BB-38242540 |

### 4.4.2 Accessoires pour la sonde de filtration

| Description | Référence |
|---|---|
| Kit d'insertion pour la sonde de filtration | BPT0059 |
| Set de tuyaux pour l'hydrophilisation de membranes filtrantes | BPT0042 |
| Cage de protection pour la sonde de filtration pour le port latéral de 25 mm, longueur de la membrane 130 mm (profondeur d'installation augmentée de 25 mm) | BPT0038 |
| Cage de protection pour la sonde de filtration pour le port latéral de 25 mm, longueur de la membrane 90 mm (profondeur d'installation augmentée de 25 mm) | BPT0039 |

### 4.4.3 Accessoires pour les sondes de dialyse et de filtration

| Description | Référence |
|---|---|
| Raccord de serrage PG13,5 avec joint torique et rondelle de glissement | BPT0061 |
| Adaptateur 19/12 mm pour l'installation des sondes de dialyse et de filtration dans le port du couvercle de 12 mm (M26x1) ; avec joints toriques | BB-8848630 |
| Adaptateur 19/12 mm pour l'installation des sondes de dialyse et de filtration dans le port du couvercle de 12 mm (RD28x1/8") | BB-34104704 |
| Joint torique (extérieur) pour l'adaptateur RD28x1/8" | BB-39120830 |
| Joint torique (intérieur) pour l'adaptateur RD28x1/8" | BB-39121054 |

Tableau 4 : Accessoires pour les sondes de prélèvement

### 4.5 Accessoires pour BioPAT® Trace

| Description | Référence |
|---|---|
| Colonne | BPT0012 |
| Fixation de colonne | BPT0013 |
| Ecrou moleté de rechange pour la cellule de mesure | BPT0026 |
| Bloc d'alimentation | BPT0027 |
| Câble secteur (Europe, Royaume-Uni, USA) | BPT0028 |

Tableau 5 : Accessoires pour BioPAT® Trace

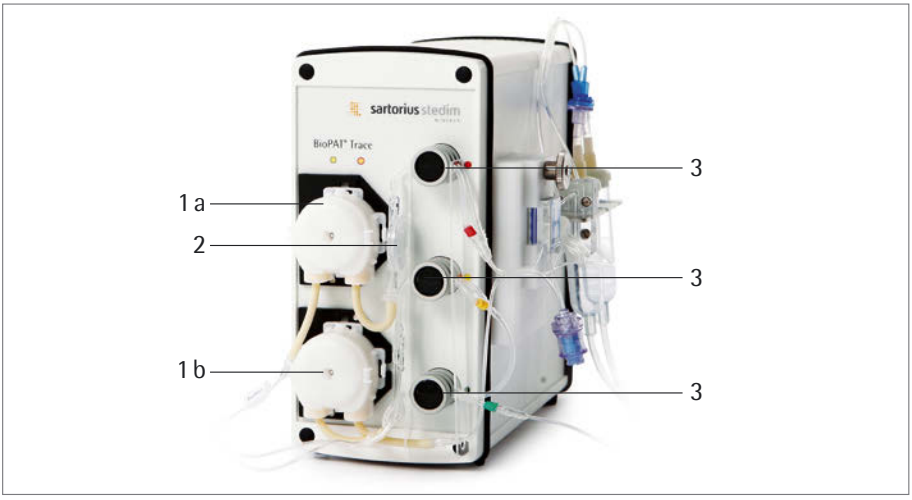
# 5. Composition et fonctions

## 5.1 Composition de l'appareil

BioPAT® Trace est un analyseur en ligne dans un boîtier métallique compact. La communication avec l'utilisateur s'effectue via un ordinateur externe. La plaque avant et une des plaques latérales sont équipées des éléments du set de tuyaux préassemblés nécessaires à l'analyse (ill. 6 et 7).

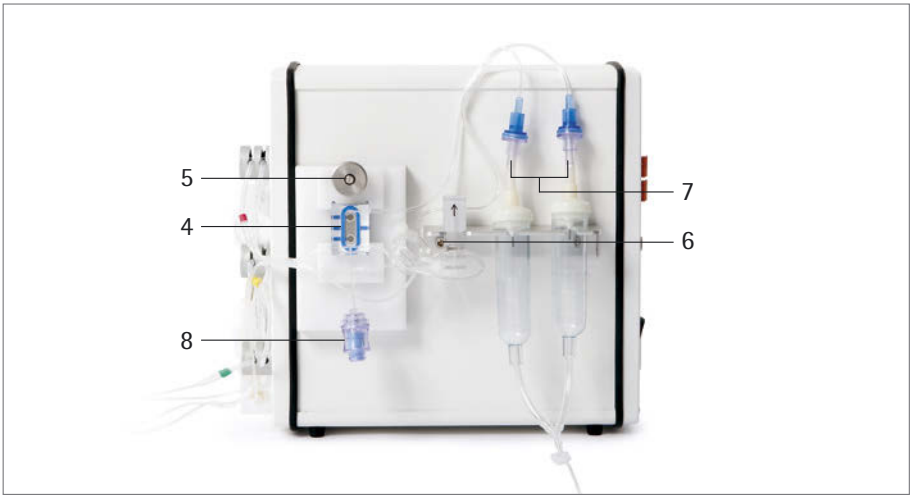
Les éléments actoriques et sensoriels se trouvent à l'extérieur du boîtier. Une pompe (1b) permet d'amener la solution étalon ou échantillon dans le système d'analyse. Une des vannes à manchon déformable (3) permet de sélectionner les solutions à transférer.

Le flux de tampon est transféré à l'aide de la pompe supérieure (1a). Un filtre à particules (2) permet d'éliminer les plus petites particules et les bulles d'air du flux de tampon.




Ill. 6 : Vue de face de BioPAT® Trace avec les composants suivants :

| Pos. | Composant |
|---|---|
| 1 a \| b | Cassettes des pompes (2 unités) |
| 2 | Filtre à particules |
| 3 | Vannes à manchon déformable (3 unités) |

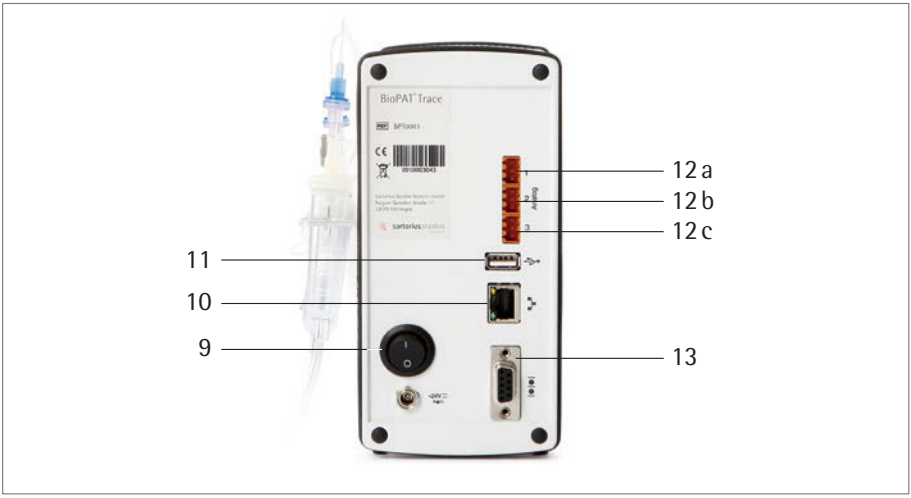



Ill. 7 : Vue latérale de BioPAT® Trace avec les composants suivants :

| Pos. | Composant |
|---|---|
| 4 | Cellule de mesure |
| 5 | Ecrou moleté pour fixer la cellule de mesure |
| 6 | Module de diffusion |
| 7 | Chambres compte-gouttes |
| 8 | Ligne de rinçage avec clapet antiretour |

L'enrichissement d'un segment de la solution tampon avec l'analyte du courant donneur a lieu dans le module de diffusion (6). Après un enrichissement en fonction du temps dans le module de diffusion (6), le courant accepteur coule dans la cellule de mesure (4) qui détecte le taux d'analyte. La cellule de mesure est fixée avec une plaque de support qui peut être détachée ou fixée à l'aide d'un écrou moleté (5). De plus, une ligne de rinçage avec un clapet antiretour (8) est également fixée à la cellule de mesure. Avant d'être transférées dans les déchets, les solutions traversent respectivement une chambre compte-gouttes (7).

La face arrière de l'analyseur BioPAT® Trace est représentée sur l'illustration 8. L'interrupteur principal (9) permet de mettre l'appareil sous tension et de l'éteindre. Le signal électrochimique du biocapteur est converti au niveau interne en une valeur de concentration à l'aide des données de calibrage. Après l'analyse, la valeur mesurée est éditée via un PC connecté au port Ethernet (10). Il est possible d'éditer les signaux via les sorties de signaux analogiques (12). Les plages suivantes sont possibles : 0..10 V, 0..20 mA, 4..20 mA.
L'interface USB (11) et l'interface série (RS232) (13) peuvent également être utilisées pour la transmission des données (actuellement pas possible).




Ill. 8 : Vue arrière de BioPAT® Trace avec les éléments suivants :

| Pos. | Fonction |
|---|---|
| 9 | Interrupteur principal |
| 10 | Port Ethernet |
| 11 | Interface USB |
| 12 a \| b \| c | Sorties analogiques (1–3) |
| 13 | Interface série |

L'analyseur BioPAT® Trace peut être fixé en option à des colonnes de laboratoire, des barres de fixation ou des consoles de table. Une fixation correspondante pour colonne et une colonne pour table adaptée sont disponibles comme accessoires.

**Il est absolument interdit de connecter une source de tension aux sorties de données analogiques qui se trouvent sur la face arrière de BioPAT® Trace. Il est également interdit de connecter un multimètre pour la mesure de la résistance.**

**Si vous utilisez un multimètre pour mesurer la tension ou l'intensité de courant, vous devez enlever les contacts vers le BioPAT® Trace avant de changer la gamme de mesure sur le multimètre pour éviter d'endommager l'appareil.**

## 5.2 Méthodes de mesure de BioPAT® Trace

L'analyseur BioPAT® Trace offre deux méthodes de prélèvement d'échantillon en ligne :
– Filtration avec une sonde de filtration
– Dialyse avec une sonde de dialyse

La mesure directe d'un échantillon de milieu filtré est la méthode la plus simple. En raison de la consommation de milieu du réacteur, le domaine d'application est toutefois limité à des processus au cours desquels le réacteur dispose d'un volume suffisant ou est continuellement alimenté.

Pour les processus au cours desquels l'échantillon disponible n'est pas suffisant en raison du volume du réacteur, il est possible d'effectuer un prélèvement par dialyse.
Cette méthode élimine seulement les substances de faible poids moléculaire du milieu du réacteur sans diminuer le volume de liquide. L'illustration 9 montre un exemple de couplage du BioPAT® Trace à un réacteur via une sonde de dialyse.

Vous trouverez des explications plus détaillées sur les sondes de prélèvement dans les chapitres suivants :
▶ « 5.6 Fonction de la sonde de dialyse » à la page 37,
▶ « 5.7 Fonction de la sonde de filtration » à la page 38.

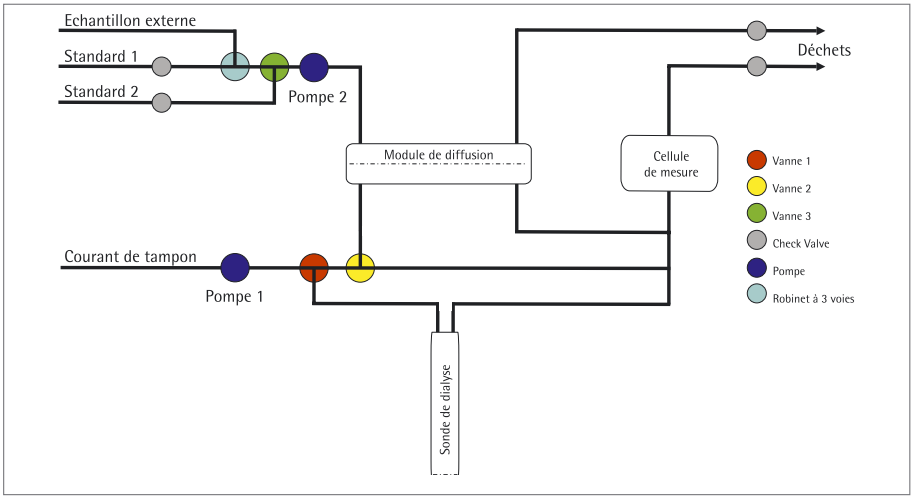
Ill. 9 : Principe d'alimentation en échantillon via la sonde de dialyse sur le BioPAT® Trace

### 5.2.1 Méthode de mesure Dialyse avec la sonde de dialyse

Au cours de la méthode de mesure Dialyse avec la sonde de dialyse, l'analyte est transféré à travers une membrane de dialyse placée dans la sonde de dialyse, qui sépare le contenu du réacteur (milieu) du courant accepteur. La membrane de dialyse a en même temps une fonction de barrière stérile. L'illustration 10 montre le schéma du système d'écoulement.

La vanne de calibrage (verte) et le robinet à 3 voies permettent de choisir entre les solutions étalons et l'échantillon manuel. La vanne à échantillon (rouge) et la vanne by-pass (jaune) permettent de choisir la sonde de dialyse ou le module de diffusion.

La partie supérieure du système d'écoulement représente le courant donneur qui amène la solution de calibrage vers le module de diffusion. Selon l'opération à effectuer, le courant porteur accumule l'analyte dans le module de diffusion ou dans la sonde de dialyse.




Ill. 10 : Schéma de la méthode de dialyse en ligne

Au cours de la méthode de dialyse, le calibrage du BioPAT® Trace a lieu via le module de diffusion interne. En revanche, la mesure de l'échantillon se déroule toujours via la sonde de dialyse placé dans le bioréacteur. Un facteur de référence est déterminé une seule fois entre les deux membranes.

Etant donné qu'il n'est pas possible de mettre une solution étalon dans le bioréacteur, le calibrage du BioPAT® Trace doit avoir lieu indirectement à l'aide du facteur de référence. La concentration initiale dans le bioréacteur est alors utilisée comme concentration de départ pour la sonde de dialyse. A partir des valeurs mesurées de l'échantillon ayant une concentration identique, le BioPAT® Trace calcule le facteur entre la membrane du module de diffusion et la membrane dans la sonde de dialyse.

Par conséquent, le calibrage de la méthode de dialyse se déroule en trois étapes :

Etape 1:
Détermination des droites de calibrage sur le module de diffusion avec la solution étalon 1 et 2

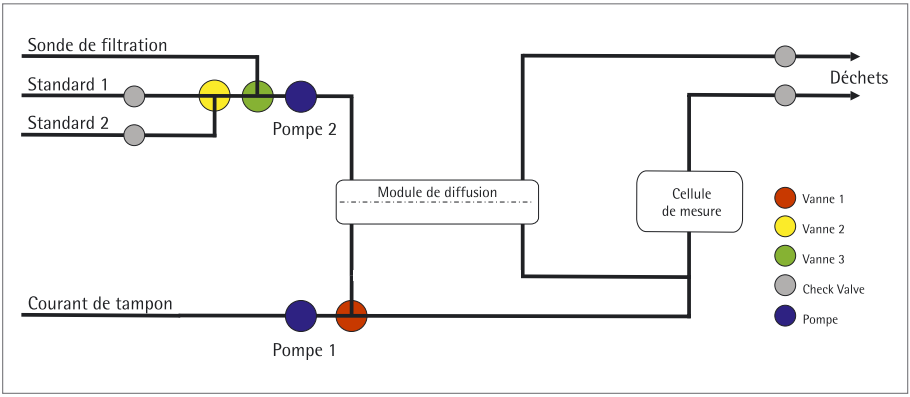
Etape 2:
Mesure de l'échantillon externe sur le BioPAT® Trace à l'aide des droites de calibrage (autre possibilité : saisie directe des valeurs de concentration si elles sont connues par pesage ou analyse externe)

Etape 3:
Détermination des droites de calibrage de la sonde de dialyse via la sonde

Après la mesure des étalons destinés à calculer les droites de calibrage, l'analyseur BioPAT® Trace calcule un facteur à partir des pentes des différentes droites. Ce facteur est utilisé au cours de toutes les mesures via la sonde de dialyse pour calculer la concentration réelle.

### 5.2.2 Méthode de mesure Filtration avec la sonde de filtration

Au cours de la méthode de mesure Filtration, l'échantillon est prélevé dans le bioréacteur à l'aide de la sonde de filtration. Le transfert de l'échantillon dans le courant de tampon est réalisé par diffusion dans le module de diffusion. La vanne de calibrage (jaune) et la vanne à échantillon (verte) permettent de choisir entre les solutions de calibrage et la sonde de filtration. La vanne by-pass (rouge) permet de choisir le module de diffusion et le by-pass. L'illustration 11 montre le schéma du système d'écoulement.




Ill. 11 : Schéma de la méthode de filtration en ligne

Au cours de la méthode de filtration en ligne, le calibrage de l'analyseur BioPAT® Trace et la mesure d'un échantillon se déroulent toujours en utilisant le module de diffusion. Le BioPAT® Trace calcule la droite de régression avec le point zéro et la pente à partir d'une mesure multiple des étalons 1 et 2. Le calcul de la concentration d'échantillon se déroule en revanche sur la base des droites de calibrage.

Ill. 12 :
Cellule de mesure avec ligne de rinçage

### 5.3 Fonction de la cellule de mesure

La cellule de mesure contient les biocapteurs pour le glucose et le lactate. Elle est représentée sur l'illustration 12. Le liquide coule verticalement vers le capteur à 2 canaux (principe « wall-jet »). Le regard permet de contrôler qu'aucune bulle d'air ne traverse la cellule. Le cas échéant, il est possible d'éliminer les bulles d'air en rinçant la chambre de mesure. Pour cela, le liquide est injecté à travers la ligne de rinçage avec le clapet antiretour.

Le signal électrique pouvant être mesuré sur les électrodes est prélevé par les contacts à ressort et envoyé dans le BioPAT® Trace. La cellule de mesure est fixée à l'appareil par un écrou moleté.

**Il faut veiller à ce qu'il n'y ait pas de bulles d'air dans la chambre de mesure de la cellule d'écoulement pendant la mesure, car cela pourrait fausser le résultat de mesure. Après avoir raccordé la sonde de prélèvement et avant de démarrer chaque série de mesures, il faut vérifier à travers le regard que la cellule de mesure ne contient pas de bulles d'air. S'il y en a, il faut les éliminer à l'aide de la ligne de rinçage.**

**Pour rincer la cellule de mesure, utilisez uniquement du tampon de transfert ou de l'eau distillée ! D'autres liquides risquent d'endommager le capteur. Utilisez uniquement des solutions fraîches et | ou une unité de filtration stérile pour éviter que des germes ne pénètrent dans le set de tuyaux !**

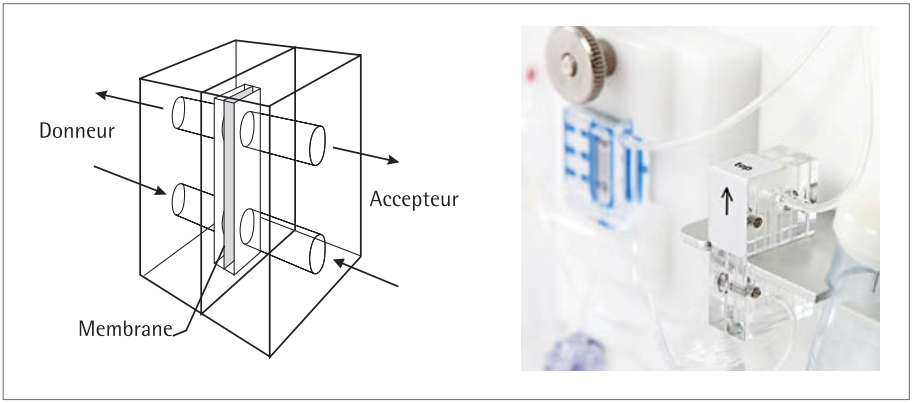
### 5.4 Fonction du filtre à particules

Le filtre à particules fait partie du set de tuyaux. Il a deux fonctions dans le BioPAT® Trace. Une filtration stérile de la solution tampon a d'abord lieu avec la membrane ayant des pores de 0,22 µm. Avant que la solution ne quitte le module, un dégazage a lieu avec une deuxième membrane. Le filtre à particules garantit ainsi que le courant accepteur dans le BioPAT® Trace ne contient pas de particules ni de bulles d'air.

**Pour que l'appareil de mesure fonctionne en toute sécurité, il faut remplacer régulièrement le set de tuyaux et le filtre à particules.**

### 5.5 Fonction du module de diffusion

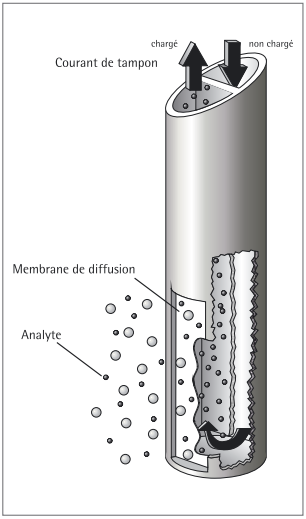
Le module de diffusion fait partie du set de tuyaux. Le module de diffusion amène les solutions étalons ou un échantillon externe vers l'analyseur. Une membrane permet de diffuser le substrat hors des solutions du donneur (solutions étalons et échantillon) dans la solution tampon (accepteur). Les différents matériaux de la membrane permettent la dialyse, la dialyse résistante à la cellulase et la diffusion de gaz pour séparer les substrats. L'illustration 13 représente un schéma du module.




Ill. 13 : Schéma et fixation du module de diffusion

Le module est en PMMA. Il a une surface de diffusion de 20 $mm^2$ et garantit un transfert de substances suffisant entre le courant donneur et le courant accepteur. Le courant donneur et le courant accepteur entrent par les entrées inférieures du module. Les sorties se trouvent dans le haut du module.

**Pour que l'appareil de mesure fonctionne avec fiabilité, le module de diffusion doit être fixé en position correcte sur la plaque de support (la flèche doit être dirigée vers le haut).**




Ill. 14 : Principe de fonctionnement de la sonde de dialyse

## 5.6 Fonction de la sonde de dialyse

Si l'échantillon du bioréacteur est amené dans le BioPAT® Trace par une sonde de dialyse, l'analyte est envoyé dans un courant de tampon mû par la pompe interne via une membrane de diffusion puis il est transféré vers la cellule de mesure. L'illustration 14 montre la fonction principale de la sonde.

La sonde de dialyse convient à tous les types de culture. L'utilisation d'une membrane de diffusion extrêmement robuste garantit une stérilité élevée. Les différents matériaux de la membrane permettent la dialyse, la dialyse résistante à la cellulase et la diffusion de gaz pour séparer les substrats. La sonde peut être installée dans le couvercle ou dans un des raccords latéraux du bioréacteur.

L'utilisation de la sonde de dialyse dépend des dimensions du bioréacteur et des conditions du processus. En général, il est conseillé d'utiliser la sonde de dialyse pour des bioréacteurs de plus petite taille, car on ne peut pas se permettre de perdre du volume lors du prélèvement. L'utilisation de la sonde de dialyse comme système de prélèvement garantit une analyse d'un volume constant.

## 5.7 Fonction de la sonde de filtration

Ill. 15 : Sonde de filtration pour le prélèvement stérile d'échantillon dans des bioréacteurs

La sonde de prélèvement permet de prélever des échantillons de substrat sans cellules dans des bioréacteurs sur la base d'une filtration (ill. 15). La sonde hydrophilisée doit être fixée à l'intérieur du bioréacteur, puis stérilisée avec le milieu. Le module à membrane de la sonde doit être placé dans la zone turbulente du bioréacteur, à proximité de l'agitateur. Une membrane tubulaire en polypropylène sert de barrière stérile. Le débit de filtrat est d'au maximum 2 ml/min.
Après le prélèvement, l'échantillon sans cellules peut être directement transféré dans le BioPAT® Trace pour y être analysé. On utilise la sonde de filtration quand on dispose d'un volume suffisant dans le bioréacteur.

Ill. 16 : Réacteur enzymatique AOD

### 5.8 Fonction du réacteur enzymatique

Le réacteur enzymatique est utilisé pour la mesure de méthanol et d'éthanol (ill. 16). Dans le réacteur se trouve l'enzyme alcool oxydase immobilisée (AOD). C'est là qu'ont lieu la transformation de l'alcool et la formation de péroxyde d'hydrogène. Le péroxyde d'hydrogène en ensuite détecté dans la cellule de mesure.

**En raison de la stabilité de l'enzyme utilisée, la température ambiante ne doit pas être supérieure à 25°C. En cas de températures plus élevées, il est conseillé d'utiliser une armoire climatisée.**

### 5.9 Correction de la température

Le BioPAT® Trace est équipée d'une sonde de température. Cette sonde se trouve à proximité de la cellule de mesure. Toutes les valeurs mesurées sont corrigées avec une fonction dépendant de la température.

# 6. Mise en service

### 6.1 Transport

L'analyseur BioPAT® Trace et ses accessoires sont livrés dans un emballage de protection. Conservez l'emballage d'origine, car il permet de protéger parfaitement l'appareil en cas où vous auriez besoin de le réexpédier.

A la livraison, contrôlez si l'emballage contient l'intégralité des éléments commandés et s'il n'y a aucun dommage dû au transport. Vous devez signaler des dommages dus au transport dans un délai d'une semaine à dater de la livraison. Toute réclamation ultérieure ne peut pas être prise en compte.

### 6.2 Installation

#### 6.2.1 Installation de l'appareil

L'analyseur BioPAT® Trace doit être installé à proximité du bioréacteur à contrôler (distance max. : 2 m). Le lieu d'installation ne doit pas être sujet à des vibrations et doit être protégé contre les atmosphères corrosives et les saletés causées par des produits chimiques. Le BioPAT® Trace doit également être protégé contre les rayons directs du soleil.

**Pour effectuer le raccordement au secteur, respectez les instructions ci-après. Danger de mort si l'appareil fonctionne avec une mauvaise tension et | ou un mauvais fusible.**

Le bloc d'alimentation fourni avec l'appareil comprend une fiche secteur, un bloc d'alimentation proprement dit et une fiche à brancher à l'appareil. Connectez la fiche à brancher à l'appareil au connecteur femelle qui se trouve sur la face arrière du BioPAT® Trace et raccordez le cordon à l'alimentation électrique. Pour mettre l'appareil en marche ou pour l'éteindre, appuyez sur l'interrupteur principal. Quand vous mettez l'appareil en marche, un voyant vert s'allume sur la face avant.

Branchez un câble Ethernet au port Ethernet qui se trouve sur la face arrière afin de relier le BioPAT® Trace au réseau local. L'appareil est commandé via un PC à l'aide du logiciel de commande livré. Ce PC doit également être connecté au réseau local ou directement via le câble Ethernet croisé fourni.

Après avoir connecté l'appareil au PC, vérifiez si les heures des deux appareils sont synchronisées. Pour cela, reportez-vous aux instructions qui se trouvent au chapitre ▶ « 7.1.4.2 Réglages de base » à la page 106.

### 6.2.2 Raccordement des tuyaux de l'appareil

Selon le mode de fonctionnement sélectionné, l'analyseur BioPAT® Trace doit être équipé du set de tuyaux correspondant (fluidique).

Pour chaque mode de fonctionnement, vous trouverez ci-dessous les instructions de montage du set de tuyaux.

Le set de tuyaux correspondant comprend les composants nécessaires pour l'analyse : cassettes des pompes, tuyaux des vannes, chambre de mesure, module de diffusion, chambres compte-gouttes et lignes de raccordement pour tampons, solutions étalons, déchets ainsi que sonde de prélèvement (Filtration, Dialyse).

Les lignes vers le tampon, les solutions étalons, la sonde de prélèvement et les déchets sont préassemblés et emballées dans un sachet. Pour faciliter la manipulation, il est conseillé de n'ouvrir les sachets qu'après avoir installé le set de tuyaux sur l'appareil.

Ill. 17 : Vue d'un set de tuyaux pour le mode de fonctionnement Filtration

Le set de tuyaux Dialyse contient en plus une seringue à usage unique avec un robinet à 3 voies pour l'analyse d'échantillons externes.

Avant de commencer l'installation, enlevez les deux cassettes vides sur les logements des pompes. Les cassettes vides peuvent être réutilisées pour protéger les axes du moteur pendant le transport.

**Utilisez toujours les sets de tuyaux originaux préparés. Les segments de tuyaux ne doivent pas être écrasés ni pliés pour que les solutions puissent s'écouler parfaitement.**

**Veillez à ce que les tuyaux des vannes soient parfaitement installés dans la vanne à manchon déformable pour pouvoir être fermés et ouverts sans problèmes.**

Les lignes d'amenée et de sortie du set de tuyaux sont emballées dans des sachets et étiquetés. Les différents tuyaux portent les inscriptions suivantes :

| | |
|---|---|
| – BUFFER | Raccordement au tampon de transfert |
| – WASTE | Raccordement aux déchets |
| – ← | Raccordement de la sonde 1 Dialyse |
| – ← | Raccordement de la sonde 2 Dialyse |
| – Sample | Raccordement de la sonde Filtration |
| – Standard1 | Inscription sur le couvercle de la solution de calibrage étalon 1 |
| – Standard2 | Inscription sur le couvercle de la solution de calibrage étalon 2 |

**Avant de remplir le set de tuyaux, vérifiez que toutes les solutions sont connectées et que les récipients sont suffisamment remplis. Des sets de tuyaux vides ou partiellement remplis entraînent des valeurs de mesure erronées !**

**La solution de transfert est fournie sous forme de concentrat. Pour la diluer correctement, suivez les instructions qui se trouvent sur l'emballage. Une mauvaise dilution ou l'absence de dilution entraîne des valeurs de mesure erronées !**

Ill. 18 : Vue de la face avant avec tous les tuyaux installés pour le mode de fonctionnement Filtration

### 6.2.3 Montage du set de tuyaux Filtration

Pour monter le set de tuyaux, vous devez d'abord insérer les tuyaux des vannes dans les vannes à manchon déformable. Pour éviter toute confusion, les lignes respectives portent des marques de couleur. Les règles suivantes s'appliquent :

- Les paires de tuyaux portent des marques de couleur (rouge, jaune et vert) et sont maintenues par deux plaques de guidage.
- L'ordre du haut vers le bas suit le principe d'un feu de signalisation : rouge en haut, jaune au milieu, vert en bas.
- La ligne marquée en couleur de la paire de tuyaux doit toujours être dans la fente avant de la vanne.
- Lorsque vous insérez le tuyau, vous devez toujours tenir le côté portant la marque de couleur de la main droite.

Après avoir inséré le set de tuyaux, vérifiez si le résultat correspond à cette description.

Ill. 19 : Insertion et tension de la paire de tuyaux dans les plaques de guidage

Prenez tout d'abord les deux plaques de guidage dans les deux mains et écartez-les légèrement pour que les tuyaux des vannes soient parallèles (ill. 19).

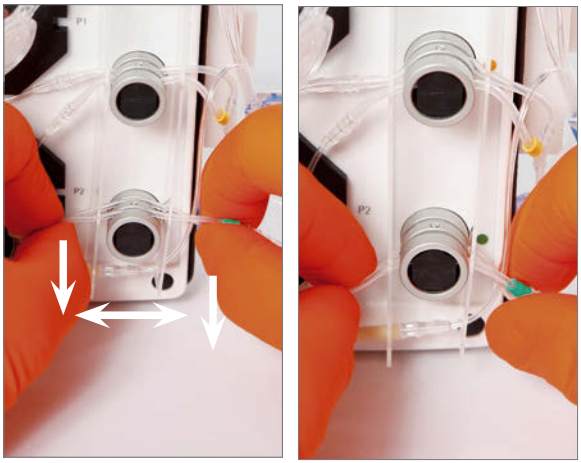
La paire de tuyaux marquée en rouge doit être en haut et la marque doit se trouver sur la droite.

Ill. 20 : Positionnement des tuyaux des vannes sur l'appareil

Ensuite, insérez les plaques de guidage de chaque côté des vannes de manière à ce que les paires de tuyaux se trouvent à chaque fois au-dessus des fentes des vannes (ill. 20).

Lorsque vous mettez les tuyaux en place, veillez à ce que la marque de couleur (rouge, jaune, vert) se trouve toujours à droite près de la vanne et corresponde à la marque de couleur de la vanne.

Quand vous insérez les tuyaux, tendez les deux côtés de la paire de tuyaux correspondante et tirez-les vers le bas jusqu'à ce que les tuyaux soient parfaitement insérés dans les fentes (ill. 21 et 22). Appuyez tour à tour sur les touches noires de la vanne pour que les tuyaux placés à l'arrière soient également parfaitement introduits dans la fente de la vanne. Contrôlez ensuite que les tuyaux sont bien positionnés dans la vanne afin d'éviter des erreurs lors de la mesure.




Ill. 21 et 22 : Insertion et tension de la paire de tuyaux

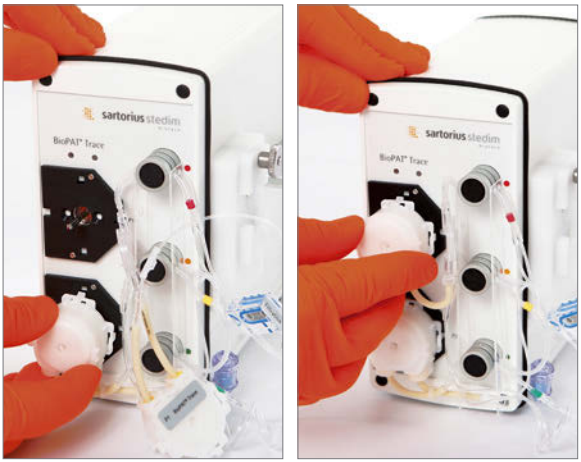
Ill. 23 : Fixation des tuyaux des vannes en rapprochant les plaques de guidage l'une de l'autre

Après avoir inséré les tuyaux dans les trois vannes, poussez les deux plaques de guidage vers les vannes pour que les tuyaux restent parfaitement en place dans les fentes (ill. 23).

Au cours de l'étape suivante, fixez les deux cassettes des pompes sur l'arbre du moteur en les enfonçant sur la plaque de support jusqu'à ce que vous les entendiez s'enclencher.

**Avant de fixer les cassettes des pompes, vérifiez si l'arbre du moteur est propre (le cas échéant, essuyez-le avec un chiffon doux). Des particules de saleté ou d'usure des analyses précédentes peuvent nuire au bon fonctionnement de la pompe ou même l'empêcher entièrement de fonctionner.**

Installez la pompe inférieure (P2) et la pompe supérieure (P1) l'une après l'autre (ill. 24 et 25).




Ill. 24 et 25 : Mise en place de la cassette de la pompe inférieure P2 et de la cassette de la pompe supérieure P1

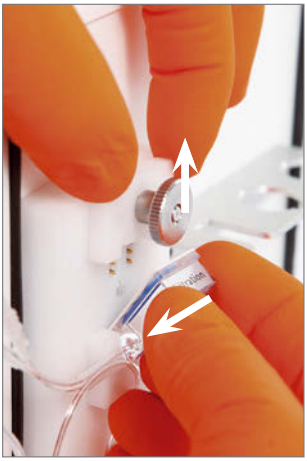
Ill. 26 : Fixation correcte de la cassette de la pompe (tourillon de fixation enclenché)

Vérifiez que les cassettes des pompes sont correctement installées (ill. 26).

Ill. 27 : Face latérale avec toutes les installations

Une fois que la face avant de l'appareil est équipée des pompes et des vannes, il faut installer le capteur, les chambres compte-gouttes et le module de diffusion sur la plaque latérale de l'appareil.

L'illustration 27 montre la face latérale de l'appareil avec tous les éléments installés.

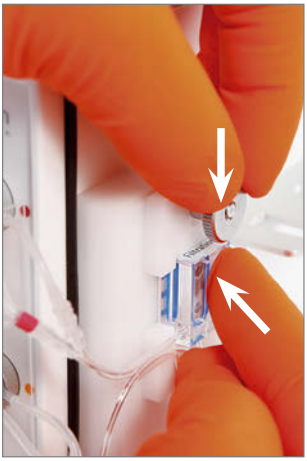


Ill. 28 : Mise en place de la cellule de mesure sur l'appareil

Insérez d'abord la cellule de mesure dans le logement de l'amplificateur de mesure (ill. 28).

Pour cela, dévissez l'écrou moleté sur la plaque de support supérieure de manière à pouvoir la déplacer vers le haut.

Ensuite, mettez le bord inférieur de la cellule de mesure dans le renfoncement sur le bord inférieur du logement (ill. 28).



Ill. 29 : Fixation de la cellule de mesure sur l'appareil

Appliquez la cellule de mesure contre le contact en tirant légèrement la plaque de support supérieure vers le haut.

Enfoncez la cellule de mesure dans le logement et poussez la plaque de support vers le bas (ill. 29).

Vissez l'écrou moleté pour fixer la cellule de mesure à l'appareil.

Ill. 30 : Fixation du module de diffusion sur la barre de fixation

Ensuite, fixez les autres éléments à l'appareil. Fixez le module de diffusion au-dessus des fentes de support latérales sur la barre de fixation (ill. 30) tout en veillant à ce qu'il soit correctement orienté avec la flèche vers le haut.

Ill. 31 : Mise en place des chambres compte-gouttes dans le support

Ensuite, mettez les deux chambres compte-gouttes dans les supports prévus à cet effet (ill. 31).

### 6.2.4 Montage du set de tuyaux pour le mode de fonctionnement Dialyse

L'installation du set de tuyaux Dialyse est la même que pour le set de tuyaux Filtration.

**Informations supplémentaires :**
Le set de tuyaux Dialyse contient en plus une seringue à usage unique avec un robinet à 3 voies pour l'analyse d'échantillons externes. Si vous ne voulez pas utiliser cette option, vous devez installer le robinet à 3 voies entre la connexion portant la marque verte et la ligne vers l'étalon de calibrage 1 (ill. 32 et 33).

Ill. 32 : Emplacement du robinet à 3 voies

Ill. 33 : Robinet à 3 voies et seringue installés

### 6.2.5 Connexion et déconnexion du réacteur enzymatique

Dans le mode de fonctionnement Méthanol | Ethanol, un réacteur enzymatique avec alcool oxydase immobilisée est nécessaire pour la transformation enzymatique des analytes. Etant donnée que l'enzyme est relativement sensible à la température et ne peut pas être conservée à sec, le réacteur est livré séparément du set de tuyaux. Le réacteur enzymatique doit être installé dans le set de tuyaux prévu à cet effet. En raison des conditions de stockage comprises entre 4 et 8°C, l'installation doit avoir lieu juste avant la mise en service.

Avant d'installer le réacteur, vous devez insérer le set de tuyaux dans le BioPAT® Trace et le remplir de tampon. Il faut absolument éviter toute mise en service à sec pour ne pas diminuer les capacités du réacteur. Pour remplir le set de tuyaux, démarrez d'abord la procédure de remplissage (voir le chapitre 7, ill. 64). Vous pouvez suivre la progression du remplissage sur l'écran en activant l'affichage de l'état (voir le chapitre 7.1.3). Vous devez arrêter l'appareil avant ou pendant les prémesures pour pouvoir installer le réacteur. Arrêter l'appareil avec « Stop » (voir le chapitre 7.1.2.3).

**Si de l'air pénètre dans le réacteur enzymatique, les capacités de ce dernier risquent de diminuer et d'entraîner une sensibilité plus faible.**

Sortez le réacteur enzymatique de son récipient de transport et ouvrez les bouchons rouges. Ensuite, installez-le à l'emplacement prévu à cet effet dans le set de tuyaux (ill. 34 à 36).

Après avoir installé le réacteur enzymatique, redémarrez l'appareil avec « Mise en service » (voir le chapitre 7.1.2.2). Sélectionnez « Nouveau kit de tubes » et démarrez une nouvelle procédure de remplissage avec le réacteur enzymatique installé.

Ill. 34 : Emplacement du réacteur enzymatique

Ill. 35 : Fixation du réacteur enzymatique

Ill. 36 : Réacteur enzymatique installé

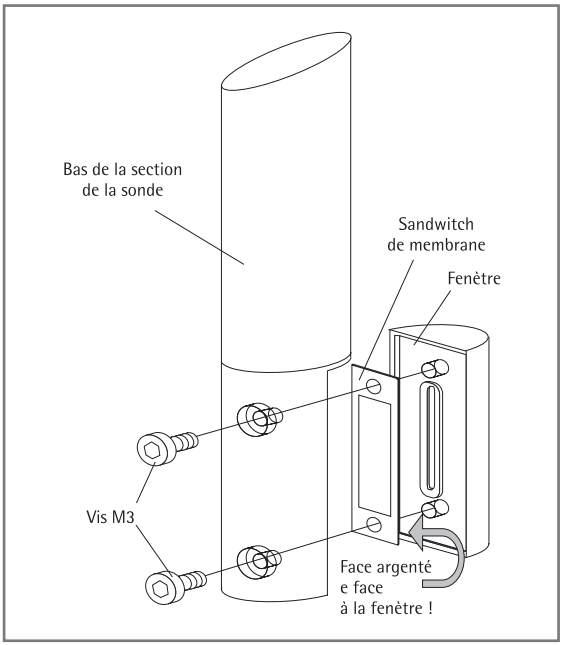
Pour démonter le réacteur, vous devez également arrêter l'appareil (Appareil – Stop). Refermez le réacteur avec le bouchon rouge, mettez-le dans le récipient de transport et conservez-le à une température comprise entre 4 et 8°C.

**Pour être réutilisé, le réacteur enzymatique doit être démonté du set de tuyaux et conservé, rempli de tampon de transfert, au réfrigérateur à 4 – 8 °C. Si de l'air pénètre dans le réacteur enzymatique, les capacités de ce dernier risquent de diminuer et d'entraîner une sensibilité plus faible.**

### 6.2.6 Raccordement de la sonde de dialyse

6.2.6.1 Montage de la membrane de dialyse dans la sonde de dialyse

Avant chaque mesure en ligne dans des bioprocessus devant respecter des conditions stériles, installez une nouvelle membrane de dialyse comme décrit sur l'illustration 37 ci-dessous. Si vous ne respectez pas cette consigne, un manque de stérilité risque de compromettre l'ensemble du processus de culture.




Ill. 37 : Changement de la membrane dans la sonde de dialyse pour l'application Glucose | lactate

La nouvelle membrane de dialyse doit être placée correctement et la monture de la sonde doit être parfaitement fixée avec les deux vis (ill. 38 à 40).

Ill. 38 : Insertion de la membrane

Ill. 39 : Montage de la monture de la sonde

Ill. 40 : Fixation des 2 vis

**Veillez particulièrement à ce que la membrane soit correctement placée dans la sonde de dialyse.**

**Le côté blanc de la membrane doit être dirigé vers la sonde de dialyse (en contact avec le tampon). Le côté argenté de la membrane doit être dirigé vers la monture de la sonde (en contact avec le milieu).**

**Si la membrane est placée de travers, la tête de la sonde de dialyse peut ne plus être hermétique et cela peut compromettre la stérilité de l'ensemble du processus de culture.**

### 6.2.6.2 Installation de la sonde de dialyse dans le bioréacteur

Avant d'installer la sonde de dialyse dans le fermenteur, insérez la rondelle de glissement et le joint torique (ill. 41).

Ill. 41 : Insertion de la rondelle de glissement et du joint torique

### 6.2.6.3 Stérilisation de la sonde de dialyse avant le raccordement à BioPAT® Trace

Avant de raccorder la sonde de dialyse au BioPAT® Trace, vous devez la stériliser avec le bioréacteur. Raccordez la sonde de dialyse au set de tuyaux, comme représenté sur l'illustration 42. L'entrée et la sortie de la sonde sont indiquées par des flèches sur les côtés. Les marques sur le set de tuyaux doivent être dans la même direction.

Ill. 42 : Remplissage de la sonde avec de la solution tampon

Ill. 43 : Fermeture de la sonde avant la stérilisation

a) Avant d'effectuer la stérilisation, remplissez la sonde de dialyse avec de la solution tampon en utilisant la seringue à usage unique et l'adaptateur Luer-UNF (ill. 42). En même temps, vous pouvez vérifier si la sonde est parfaitement hermétique.
b) Pour effectuer la stérilisation, fermez la sonde en raccordant les raccords Luer (ill. 43). Cela évite qu'une surpression unilatérale ne se produise sur la membrane dans la sonde de dialyse et n'endommage la membrane.
c) Stérilisez le réacteur.
d) Après la stérilisation : après la phase de refroidissement, ouvrez les raccords Luer.
e) Remplissez la sonde de solution tampon en utilisant à nouveau la seringue à usage unique et vérifiez avec précaution que le liquide s'écoule librement (ill. 42).
f) La sonde de dialyse peut désormais être raccordée au set de tuyaux correspondant de l'analyseur en ligne.

6.2.6.4 Raccordement de la sonde de dialyse au set de tuyaux

La sonde de dialyse doit être connectée au set de tuyaux de dialyse de l'analyseur en ligne. L'entrée et la sortie de la sonde sont indiquées par des flèches sur les côtés. Les marques sur le set de tuyaux doivent être dans la même direction (ill. 44 et 45 ci-dessous).

Ill. 44 et 45 : Raccordement de la sonde de dialyse au set de tuyaux

**Lors de la mise en service de la sonde après la stérilisation, il se peut que vous deviez éliminer des bulles d'air de la chambre de mesure de l'analyseur en ligne.**

6.2.6.5 Nettoyage de la sonde de dialyse et changement de la membrane

a) Avant de démonter la sonde de dialyse du bioréacteur, enlevez le set de tuyaux de la sonde en débranchant les extrémités des tuyaux.
b) Après la récolte du bioréacteur et une éventuelle phase d'autoclavage destinée à stériliser entièrement le bioréacteur, démontez la sonde de dialyse du bioréacteur. Nettoyez ensuite la sonde et son adaptateur avec une brosse souple et de l'eau.
c) Vérifiez que les joints d'étanchéité de l'adaptateur de la sonde de dialyse sont propres et correctement installés.
d) Dévissez les deux vis torx à l'extrémité de la sonde de dialyse à l'aide de la clé torx livrée et enlevez la monture de la sonde de dialyse avec la membrane de dialyse du support de la monture.
e) Ensuite, nettoyez la monture de la sonde et le support de la monture avec une brosse souple et de l'eau.

### 6.2.7 Raccordement de la sonde de filtration

La sonde de filtration (sonde de prélèvement en ligne) sert à prélever du filtrat stérile dans des bioréacteurs et des fermenteurs dans des conditions stériles. Une membrane de microfiltration en polypropylène en forme de tuyau qui est placée à l'intérieur du bioréacteur à l'aide d'une sonde en ligne sert de barrière stérile. La sonde de filtration est stérilisée en même temps que le bioréacteur.

La sonde de prélèvement doit être installée dans le raccord du bioréacteur conformément au standard (INGOLD) METTLER-TOLEDO® (port de 12 et 19 mm sur le couvercle ainsi que port latéral de 25 mm). On prélève le filtrat stérile de manière continue ou discontinue à la tête de la sonde qui est accessible à l'extérieur du bioréacteur | fermenteur. Pour transférer le filtrat, raccordez la sonde au set de tuyaux de filtration.

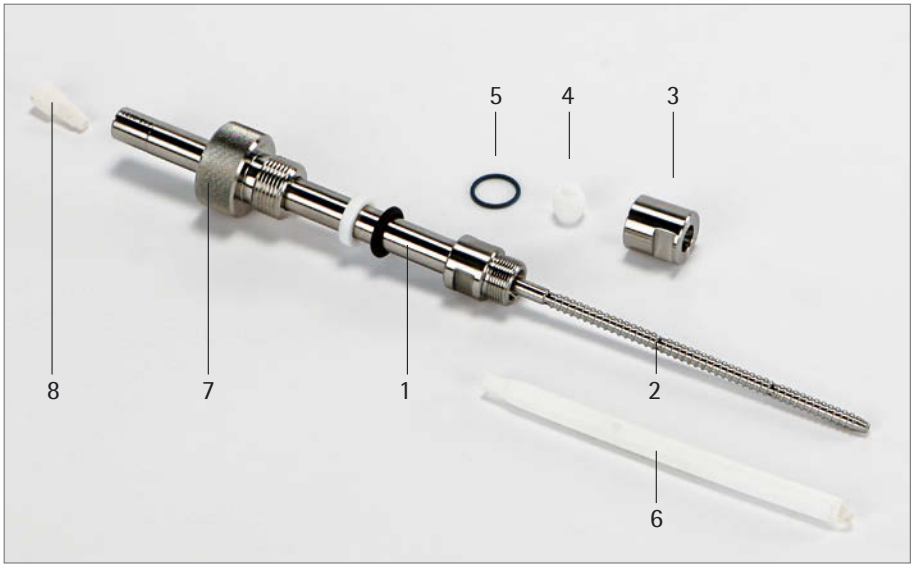
L'illustration suivante (46) montre la sonde de filtration à installer dans le port du couvercle de 12 mm et la sonde de filtration équipée d'un robinet d'arrêt à installer dans le port latéral de 25 mm.

Ill. 46 : Sondes de filtration pour ports de 12 mm et de 25 mm

**Lors du montage et de l'utilisation de la sonde de filtration, suivez les instructions qui se trouvent dans la notice fournie.**
**L'hydrophilisation de la membrane en polypropylène, l'installation dans le bioréacteur, le contrôle de fuite, la stérilisation en ligne et le nettoyage de la sonde de filtration doivent obligatoirement être effectués conformément aux procédures décrites.**

6.2.7.1 Description du dispositif

La sonde de filtration à monter dans un port de 12 mm dans le couvercle comprend une unité de filtration (1) avec un support de membrane (2), un écrou-raccord (3), une ferrule (4), un joint torique (5), une membrane en polypropylène (6), un kit de montage (raccord de serrage avec rondelle de glissement et joint torique) (7) et un bouchon (8).




Ill. 47 : Eléments de la sonde de filtration à installer dans le port du couvercle de 12 mm avec presse-étoupe de 13,5

La membrane en polypropylène (6) doit être fixée sur le support de membrane (2), un tube hélicoïdal en inox. Le perméat obtenu à travers la membrane est envoyé vers 4 orifices en croix via un canal hélicoïdal. Ces 4 orifices dirigent le filtrat par le chemin le plus court dans le trou de récolte de l'unité de filtration, ce qui empêche largement que l'échantillon ne se remélange.

La ferrule (4) en PTFE entoure l'extrémité de la membrane et la partie dégagée du support de la membrane. Quand on visse l'écrou-raccord (3), la ferrule se déforme sous l'effet de la pression et colmate parfaitement l'extrémité de la membrane vers le support de membrane.

Le filetage de la sonde est protégé contre la pénétration de microorganismes par le joint torique (5) et le serrage jusqu'à l'arrêt.

La profondeur d'immersion de la sonde de filtration varie entre 160 et 330 mm en fonction de l'installation avec le raccord de serrage du kit de montage (7).

Le bouchon (8) sert à fermer la sonde de filtration pendant la stérilisation.

### 6.2.7.2 Accessoires optionnels

Deux adaptateurs-réducteurs de 19/12 mm (M26×1 avec filetage fin et RD 28×1/8" avec filetage grossier) sont disponibles pour installer la sonde de filtration dans le port de 19 mm du couvercle.

Ill. 48 : Sonde de filtration avec adaptateur M26×1

Ill. 49 : Sonde de filtration avec adaptateur RD 28×1/8"

6.2.7.3 Montage de la sonde de filtration
Introduisez l'ouverture la plus étroite de la ferrule sur le support de membrane et enfoncez la ferrule jusque dans la fixation de membrane conique inférieure de l'unité de filtration (ill. 50).

Sortez la membrane en polypropylène de son emballage et insérez-la avec précaution jusqu'à l'arrêt dans la ferrule en PTFE déjà installée sur le support de membrane.

Ill. 50 : Insertion de la ferrule

Ill. 51 : Installation de la membrane en polypropylène

Poussez le joint torique au-dessus du filetage extérieur de l'unité de filtration. Ensuite, poussez l'écrou-raccord avec précaution au-dessus de la membrane et vissez-le dans l'unité de filtration jusqu'à l'arrêt mécanique à l'aide de deux clés plates.

Ill. 52 : Insertion du joint torique

Ill. 53 : Fixation de l'écrou-raccord

**Avant d'installer la sonde de filtration, humidifiez-en le filetage extérieur avec de l'eau déminéralisée.**
**Vissez la sonde jusqu'à l'arrêt mécanique.**

6.2.7.4 Hydrophilisation de la membrane en polypropylène

Les membranes en polypropylène neuves sont imperméables aux milieux aqueux (hydrophobes).

Une fois que la sonde de filtration est installée, il faut donc hydrophiliser la membrane avec de l'isopropanol (70%, vol/vol).

Immergez la sonde dans une éprouvette à pied assez haute contenant la solution d'hydrophilisation de manière à ce que la membrane se trouve entièrement dans le liquide. A l'aide d'une pompe péristaltique raccordée à la sortie d'échantillon de la sonde, pompez l'alcool en circuit à travers la sonde avec un débit de 1–2 ml/min. L'hydrophilisation dure au moins 2 heures. Si vous n'utilisez pas de pompe, vous pouvez également hydrophiliser la sonde en la conservant une nuit dans de l'isopropanol à 70 % (vol/vol).

6.2.7.5 Contrôle de fuite

Un contrôle de fuite doit être réalisé après l'hydrophilisation. A cet effet, utilisez le dispositif d'hydrophilisation décrit au point 6.2.7.6.2.

Au lieu d'aspirer de l'isopropanol à travers la membrane de la sonde, on pompe désormais de l'air dans la sonde. Le débit doit être identique à celui de l'hydrophilisation qui a eu lieu précédemment.

- Beaucoup de petites bulles d'air doivent sortir en différé de la membrane. Dans le cas contraire, cela indique que la membrane n'est pas suffisamment hydrophilisée.
- Si de grosses bulles d'air sortent de l'écrou-raccord, cela signifie que les joints sont défectueux.

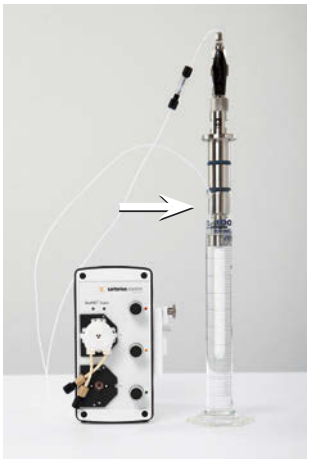
Pour que la membrane reste hydrophile jusqu'à son installation dans le bioréacteur, il est conseillé de la conserver dans une solution d'hydrophilisation (isopropanol à 70 %). Juste avant l'installation dans le bioréacteur, remplacez l'isopropanol par de l'eau pour éviter l'évaporation et la perte d'hydrophilisation.

6.2.7.6 Utilisation du set d'hydrophilisation
Le set d'hydrophilisation aide à mettre la sonde de filtration en service. Il peut être commandé en option.

La membrane en polypropylène utilisée pour la sonde de filtration est imperméable aux milieux aqueux (hydrophobe). Avant chaque utilisation, elle doit donc être hydrophilisée avec une solution d'isopropanol à 70 %. L'hydrophilisation peut être facilement effectuée avec le set d'hydrophilisation et le BioPAT® Trace.

Ill. 54 : Set d'hydrophilisation avec la cassette de la pompe et les tuyaux

6.2.7.6.1 Description du dispositif
Le set d'hydrophilisation comprend une cassette de pompe à laquelle sont raccordés deux tuyaux en PTFE. A une extrémité de tuyau se trouve un raccord UNF avec une ferrule (à connecter à la sonde) et l'autre extrémité n'est pas équipée de raccord (ill. 54).



Ill. 55 : Montage et raccordement du set d'hydrophilisation

6.2.7.6.2 Réalisation de l'hydrophilisation
Après avoir été installée dans la sonde de filtration, la membrane en polypropylène doit être hydrophilisée avec de l'isopropanol (à 70%, vol/vol).

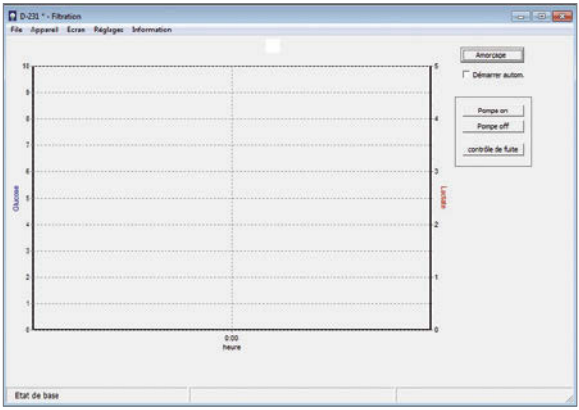
Immergez la sonde dans une éprouvette à pied assez haute contenant la solution d'hydrophilisation de manière à ce que la membrane se trouve entièrement dans le liquide.

Raccordez l'extrémité du tuyau munie d'un raccord UNF à la sonde de filtration. Fixez l'extrémité libre du tuyau dans une éprouvette à pied de manière à ce qu'elle pende librement dans l'air au-dessus du niveau de liquide (flèche sur l'illustration 55).

Fixez la cassette de la pompe du set d'hydrophilisation sur un arbre du moteur du BioPAT® Trace. Le deuxième arbre du moteur reste libre.

Quand vous démarrez le programme « TraceMon » dans le mode Filtration, l'écran de démarrage représenté sur l'illustration 56 apparaît. Sur le côté droit de l'interface utilisateur se trouve la zone de commande avec les boutons de commande pour démarrer (Pompe on) et arrêter (Pompe off) la pompe, ainsi que le bouton de commande pour le contrôle de fuite.

Appuyez sur « Pompe on » pour démarrer la procédure d'hydrophilisation. La solution d'isopropanol est aspirée à travers la sonde de filtration et à nouveau transférée dans l'éprouvette à pied. L'hydrophilisation doit durer au moins deux heures pour obtenir des performances de filtration suffisamment bonnes au cours du fonctionnement. Pour terminer l'hydrophilisation, arrêtez la pompe en appuyant sur la touche « Pompe off ».




Ill. 56 : Page de démarrage Filtration avec panneau pour la commande de la pompe pour l'hydrophilisation

6.2.7.6.3 Réalisation du contrôle de fuite
Une fois que l'hydrophilisation est terminée, il faut effectuer un contrôle de fuite à l'aide de la zone de commande (ill. 56). Pour cela, appuyez sur le bouton de commande « Contrôle de fuite ».

Pour effectuer le contrôle de fuite, il faut utiliser le dispositif d'hydrophilisation représenté sur l'illustration 55. L'extrémité libre du tuyau du set d'hydrophilisation doit pendre librement dans l'air au-dessus du niveau de liquide dans l'éprouvette à pied (flèche sur l'illustration 55).

Le test dure 8 minutes. Pendant ce temps, de l'air est pompé dans la sonde. Ensuite, la pompe aspire automatiquement l'isopropanol à travers la membrane pour garantir que la membrane ne redevient pas hydrophobe.

Pendant la procédure de test, les phénomènes suivants doivent se produire :
- Beaucoup de petites bulles d'air doivent sortir de la membrane au bout d'environ 6 minutes. Dans le cas contraire, cela indique que la membrane n'est pas suffisamment hydrophilisée.
- Si de grosses bulles d'air sortent de l'écrou-raccord, cela signifie que les joints sont défectueux.

Pour que la membrane reste hydrophile jusqu'à son installation dans le bioréacteur, il est conseillé de la conserver dans une solution d'isopropanol à 70%.

Juste avant l'installation dans le bioréacteur, remplacez l'isopropanol par de l'eau pour éviter l'évaporation et la perte de l'hydrophilisation. A cet effet, remplacez la solution qui se trouve dans l'éprouvette à pied (ill. 55) par de l'eau et démarrez la pompe en appuyant sur la touche « Pompe on » dans la zone de commande (ill. 56). Au bout d'environ 10 minutes,

appuyez sur la touche « Pompe off » pour arrêter la procédure. Enlevez le set d'hydrophilisation de la sonde de filtration et installez-la dans le bioréacteur conformément aux instructions qui se trouvent dans le mode d'emploi.

**Respectez obligatoirement les instructions du mode d'emploi de la sonde de filtration. Un montage, un prétraitement ou un nettoyage non conformes de la membrane peuvent provoquer des erreurs de mesure ou des contaminations du bioréacteur !**

6.2.7.6.4 Régénération de la sonde de filtration après la fermentation
La sonde de filtration doit être démontée du port du bioréacteur juste après la vidange et la stérilisation du bioréacteur. Nous conseillons de remplacer la membrane et la ferrule en PTFE après chaque utilisation.

Dans de nombreux cas, il est toutefois possible de réutiliser la membrane (3 – 5 utilisations) après l'avoir nettoyée. Dans ce cas, procédez comme suit :

Avec par exemple une brosse souple, enlevez à l'eau courante tous les dépôts qui adhérent sur la sonde de filtration.

Ensuite, pour enlever la contamination de protéine de la membrane, pompez une faible solution alcaline (par ex. 0,5 N de NaOH) dans le circuit dans le sens de la filtration à travers la sonde de filtration. Le cycle de nettoyage dure environ 4 heures. Pour cela, vous pouvez utiliser le même dispositif que pour l'hydrophilisation.

A la fin de la procédure de nettoyage, remplissez l'éprouvette à pied avec de l'eau déminéralisée et rincez soigneusement la sonde de filtration avec le set d'hydrophilisation raccordé de manière à enlever le reste de solution alcaline.

Pour que la membrane reste hydrophile, conservez la sonde dans une solution d'hydrophilisation (isopropanol à 70%) jusqu'à la prochaine utilisation.

Si les performances de filtration de la sonde sont insuffisantes malgré le rinçage minutieux avec une solution alcaline, installez une nouvelle membrane avec la ferrule en PTFE nécessaire.

6.2.7.7 Installation dans le bioréacteur

Avant d'installer la sonde de filtration dans le raccord de prélèvement du bioréacteur, vérifiez toujours que tous les raccords sont parfaitement vissés et si nécessaire resserrez-les. Vérifiez également que le joint torique de la sonde de filtration n'est pas endommagé et remplacez-le si nécessaire.

Choisissez un raccord du bioréacteur qui permet de placer la sonde dans une zone à fortes turbulences. Une vitesse d'écoulement la plus élevée possible à la surface du filtre prolonge la durée de vie de la sonde de filtration (effet tangentiel).

Veillez absolument à ce qu'une fois installée, la sonde ne touche pas des éléments en mouvement (par ex. agitateur, arbre d'agitation) à l'intérieur du bioréacteur.

Lorsque le bioréacteur fonctionne, la membrane en polypropylène doit toujours être entièrement immergée dans le liquide pour éviter que les performances de filtration ne diminuent trop fortement.

Une pression hydrostatique élevée au point de prélèvement peut améliorer les performances de l'unité de filtration.

Installez toujours la sonde de filtration juste avant de remplir le bioréacteur, car la membrane n'est plus hydrophile si elle se dessèche.

6.2.7.8 Stérilisation en ligne de la sonde de filtration

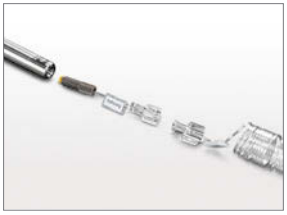
Une fois que la sonde de filtration est installée, fermez-la avec un bouchon et stérilisez-la avec le bioréacteur. Pendant tout le processus, la sonde doit être entièrement recouverte de liquide.

Quand la stérilisation est terminée et que le réacteur a atteint une température de fonctionnement d'au maximum 40 °C, ouvrez la sortie de filtrat et connectez la sonde de filtration au BioPAT® Trace via un set de tuyaux pour le prélèvement d'échantillon.

6.2.7.9 Raccordement de la sonde de filtration au set de tuyaux

La sonde de filtration doit être connectée au set de tuyaux de filtration de l'analyseur en ligne.

Une ligne d'adaptation (Luer-UNF) est disponible comme accessoire pour raccorder la sonde de filtration au set de tuyaux de l'analyseur en ligne BioPAT® Trace. Elle doit être installée entre la sonde (raccord UNF) et le set de tuyaux de BioPAT® Trace (raccord Luer) comme représenté sur les illustrations 57 et 58.



Ill. 57 : Sonde de filtration avec set de tuyaux

Ill. 58 : Raccordement du set de tuyaux

### 6.3 Téléchargement du logiciel et connexion réseau

L'analyseur BioPAT® Trace est commandé de manière interne par un ordinateur et peut être utilisé comme participant à part entière dans des réseaux d'entreprise, des réseaux locaux ou en connexion directe avec un PC.

Pour cela, il faut installer le logiciel fourni sur le PC prévu pour la commande.

Les fichiers nécessaires à l'installation du logiciel trace_mon sont enregistrés dans la mémoire de l'appareil et sont accessibles à partir d'un site web interne.

Pour l'installation, veuillez procéder de la manière suivante :

Raccordez le BioPAT® Trace à votre réseau et ouvrez sur votre navigateur web l'adresse IP par défaut 192.168.120.231.

Vous avez ici la possibilité de télécharger des fichiers importants et le mode d'emploi sur votre ordinateur et d'attribuer à l'appareil l'adresse IP adaptée à votre propre réseau. Si vous ne souhaitez faire aucune modification, par ex. en cas de liaison directe avec un PC via un câble Ethernet croisé, l'appareil fonctionnera avec l'adresse IP par défaut. Si vous utilisez une connexion directe, veillez à ce que votre ordinateur ne soit pas réglé sur l'affectation automatique de l'adresse IP !

Pour commencer, veuillez télécharger sur votre ordinateur les fichiers importants pour l'installation (clic droit de la souris). Ils se trouvent sous l'option de menu « Téléchargements ». Vous y trouverez les fichiers suivants :

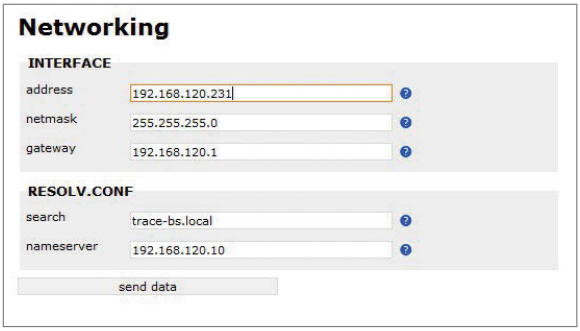
- setup_tracemon_x_x_x comme fichier de configuration du logiciel (_x_x_x = indication de version)
- ip_set comme copie de sécurité du fichier de boot
- Mode d'emploi du BioPAT® Trace au format de fichier pdf

La deuxième étape consiste à modifier l'adresse réseau de l'appareil. Vous la trouverez sous l'option de menu « Téléchargements ».

Illustration 59 : Connexion pour les réglages de réseau

Pour cela, vous devez vous connecter avec l'identifiant **TuSh1Vf5Ja**.

**Dans la plupart des cas, l'adresse IP par défaut n'est pas compatible avec les réseaux d'entreprise. Faites-vous attribuer par votre administrateur réseau une adresse IP adaptée, sinon l'appareil pourrait ne pas se connecter avec le logiciel.**




Ill. 60 : Champs de saisie pour le réglage du réseau

Si vous voulez travailler via un réseau local ou un réseau d'entreprise, il se peut que l'adresse réseau préréglée ou la désignation du réseau ne soit pas compatible avec votre réseau. Dans ce cas, adressez-vous à votre administrateur de réseau et changez l'adresse IP du BioPAT® Trace dans ce champ de formulaire.

Après la modification de l'adresse réseau, le BioPAT® Trace est uniquement accessible via la nouvelle adresse IP. Les 3 derniers chiffres de l'adresse IP (ici 231) représentent le numéro de l'appareil qui est affiché sur l'interface utilisateur.

### 6.3.1 Elimination des problèmes

Si vous auriez saisi des adresses IP différentes ou incorrectes sur le site web de l'appareil et pendant l'installation, la liaison ne pourra pas se faire. Vous pouvez alors procéder de la manière suivante :

Dans un premier temps, essayez d'établir une connexion directe avec le site web interne de l'appareil à l'aide d'un PC et d'un câble Ethernet croisé via l'adresse IP standard 192.168.120.231.

Si la liaison n'est pas possible, il convient de forcer une modification sur une adresse IP connue à l'aide du fichier boot. Eteignez d'abord l'appareil. Copier ensuite le fichier boot « ip-set » sur une clé USB et branchez-la à l'arrière de votre appareil. Allumez ensuite l'appareil. Après la procédure de boot, la nouvelle adresse IP est 192.168.120.232.

Ouvrez la nouvelle adresse IP 192.168.120.232 avec votre navigateur web.
Une fois que vous avez établi de cette façon la liaison avec l'appareil, vous pouvez régler l'adresse réseau via votre navigateur web comme décrit plus haut.

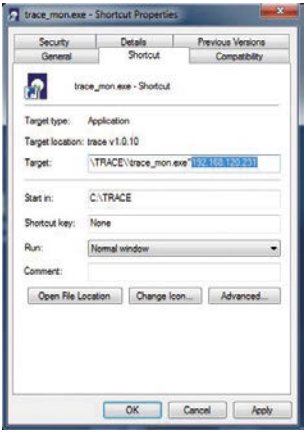
### 6.4 Installation du logiciel PC

Pour installer le logiciel de commande sur votre ordinateur, exécutez le fichier « setup_tracemon ». Une invite vous demande de saisir la nouvelle adresse IP. Pour ce faire, remplacez l'adresse IP par défaut par la nouvelle adresse IP. Si vous n'avez pas modifié l'adresse IP, confirmez avec « Suivant ».

Pendant l'installation, une invite vous demande de définir les emplacements d'enregistrement pour le programme et les données de mesure ultérieures. Ensuite, le logiciel démarre l'appareil avec l'adresse IP indiquée et se connecte automatiquement au BioPAT® Trace.

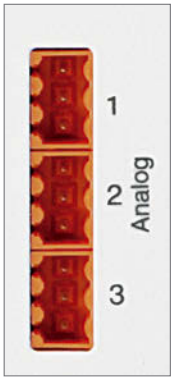
### 6.5 Modification des réglages de démarrage

Si vous avez modifié l'adresse IP ultérieurement, vous devez également mettre à jour les réglages de démarrage dans le raccourci du programme de l'icône de démarrage pour que l'appareil puisse continuer à se connecter automatiquement.
Pour ce faire, procédez comme suit :



Ill. 61 : Réglages de démarrage

1. Allez sur le bureau.
2. Cliquez droit sur l'icône de démarrage.
3. Sélectionnez l'option « Propriétés ».
4. Saisissez la nouvelle adresse IP à l'endroit indiqué sur l'illustration suivante.
5. Confirmez la modification avec « Appliquer » et « OK ».



Ill. 62 : Sorties analogiques

### 6.6 Affectation des sorties analogiques

Les valeurs de mesure obtenues sont disponibles aux connecteurs femelles Analog 1 (canal de mesure 1 – Glucose) et Analog 2 (canal de mesure 2 – Lactate) pour une utilisation ultérieure en tant que signaux analogiques. En cas d'utilisation de la méthode Ethanol | Méthanol, le signal est édité sur Analog 1. La sortie Analog 3 n'est pas affectée.

| | | | |
|---|---|---|---|
| 1-1 | 0 (2) – 10 V | 2-1 | 0 (2) – 10 V |
| 1-2 | GND | 2-2 | GND |
| 1-3 | 0 (4) – 20 mA | 2-3 | 0 (4) – 20 mA |

Dans le menu « Paramètres » (7.1.4.1.), il est possible de commuter le format de sortie entre 0 – 10 V et 2 – 10 V ou entre 0 – 20 mA et 4 – 20 mA. Ici, vous pouvez également régler les plages de sortie des sorties analogiques.

Pour régler les plages de sortie des sorties analogiques, reportez-vous au chapitre 7.1.4.1 « Paramètres » à la page 102.

Le signal à la sortie analogique change à chaque nouvelle valeur de mesure et reste inchangé jusqu'à ce que :
a) une nouvelle valeur de mesure soit disponible,
b) l'appareil soit relancé,
c) « Nouveau kit de tubes » soit activé.

## 6.7 Mise en service de l'appareil

Avant chaque mise en service, contrôlez le BioPAT® Trace pour vous assurer que tous les modules sur l'appareil sont prêts à fonctionner. Les points suivants doivent être contrôlés avec soin :

- Les deux cassettes d'origine des pompes sont-elles correctement installées ?
- Le set de tuyaux est-il complet et correctement installé ?
- En mode de fonctionnement Méthanol | Ethanol, est-ce que le réacteur enzymatique est installé ?
- La cellule de mesure est-elle dans son support ?
- Les quantités de tampon de transfert disponibles sont-elles suffisantes et y a-t-il les solutions étalons correspondantes ?

Ensuite, vous pouvez démarrer l'appareil.
Les fonctions nécessaires au logiciel de commande sont décrites en détail dans le chapitre ▶ « 7. Fonctionnement » à la page 85. Effectuez les différentes étapes dans l'ordre suivant :

1) Dans le menu « Réglages de base », sélectionnez la méthode de mesure (chapitre ▶ « 7.1.4.2 Réglages de base » à la page 106).
2) Dans le menu « Paramètres », définissez les étalons et la fréquence de mesure et de calibrage que vous voulez utiliser (chapitre ▶ « 7.1.4.1 Paramètres » à la page 102).
3) Si tous les tuyaux et toutes les lignes de prélèvement sont raccordés, démarrez le remplissage (chapitre ▶ « 7. Fonctionnement » à la page 85).
4) Après l'amorçage, l'appareil démarre automatiquement les mesures (si l'option de démarrage automatique a été activée) ou passe en mode « En attente ».

Si vous travaillez avec la méthode de dialyse, vous devez effectuer à temps une mesure de référence pour obtenir des résultats significatifs. Pour cela, procédez comme décrit au chapitre ▶ « 7. Fonctionnement » à la page 85.

### 6.8 Mise hors service

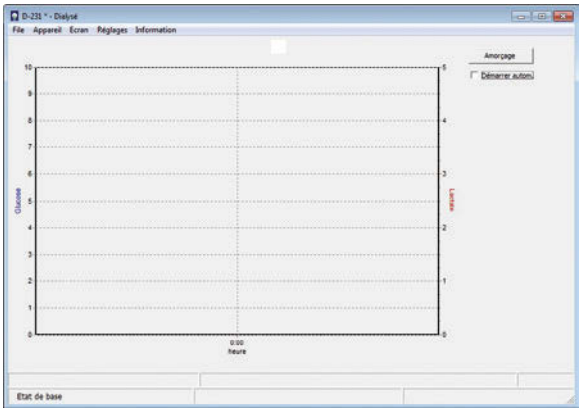
Vous pouvez à tout moment éteindre l'appareil en appuyant sur l'interrupteur principal. Les valeurs de calibrage et de référence enregistrées en dernier sont conservées pour le prochain démarrage (voir le paragraphe ▶ « 7.1.2.1 Connecter » à la page 93).

Si vous éteignez l'appareil de mesure pendant deux jours (par ex. le week-end), le système peut rester rempli de tampon. En cas de non-utilisation prolongée, vous devez changer le set de tuyaux avant de redémarrer l'appareil.

En mode de fonctionnement Méthanol | Ethanol, le réacteur enzymatique doit être démonté en cas de mise hors service et conservé au frais (voir le chapitre « 6.2.5 Connexion et déconnexion du réacteur enzymatique »).

# 7. Fonctionnement

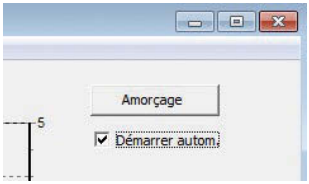
L'analyseur BioPAT® Trace peut être mis en marche à l'aide de l'interrupteur principal et il est commandé via un PC externe.
L'icône de démarrage se trouve sur le bureau du PC. Double-cliquez sur cette icône pour démarrer l'application. L'interface utilisateur représentée sur l'illustration 63 apparaît.




Ill. 63 : Page de démarrage avec indication des zones de sélection et d'affichage

Le numéro de l'appareil apparaît dans l'en-tête. Ici 231*. L'astérisque indique que l'ordinateur de commande a établi une connexion avec le BioPAT® Trace. S'il n'y a pas de connexion avec l'appareil de mesure, vous devez l'établir (voir le paragraphe ▶ « 6.3.1 Connexion via Ethernet » à la page 80).

Les commandes suivantes peuvent être sélectionnées dans la barre de menu :
File (Fichier), Appareil, Ecran, Réglages et Information.




Ill. 64 : Démarrage automatique

Les valeurs mesurées de glucose et de lactate sont enregistrées en fonction du temps au milieu dans la fenêtre de mesure. Les valeurs de glucose sont représentées par des points bleus et les valeurs de lactate par des points rouges.

L'état de l'appareil est affiché sous la fenêtre de mesure. Au début, l'appareil se trouve en mode de fonctionnement de base. A droite à côté de la fenêtre de mesure se trouve la zone des touches de sélection contextuelles.

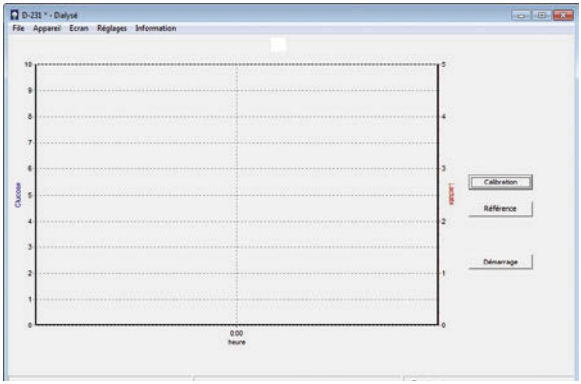
Après avoir redémarré l'appareil, vous devez d'abord remplir complètement le set de tuyaux et effectuer quelques prémesures pour que le système de capteur soit stable avant que le calibrage ne commence. Outre le remplissage et les prémesures, ce processus appelé amorçage comprend également un calibrage du système. Après l'amorçage, l'appareil passe en mode « En attente ». L'ensemble du processus dure entre 40 et 60 minutes selon la méthode de mesure choisie.

Toutefois, il est également possible de laisser le BioPAT® Trace commencer automatiquement les mesures directement après l'amorçage. Pour que le démarrage soit automatique, cochez « Démarrer automatiquement » (ill. 64). L'appareil démarre alors automatiquement la mesure après le calibrage initial.

Si vous appuyez sur la touche « Amorçage », l'appareil démarre le remplissage et la touche disparaît.

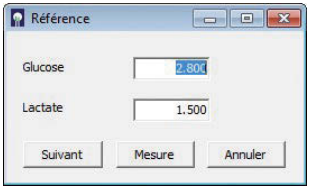
**Si vous mettez le système en marche avec le démarrage automatique, vérifiez d'abord que le set de tuyaux a été correctement raccordé au port de prélèvement du bioréacteur.**

Si le système est prêt à mesurer, « En attente » est affiché sur la ligne en bas à droite (ill. 65). En mode de filtration, deux touches sont disponibles quand le système est en attente : d'une part la touche « Calibration » pour éventuellement effectuer une nouvelle mesure de calibrage avec l'appareil et d'autre part la touche « Démarrage » pour déclencher les mesures.




Ill. 65 : Affichage en mode « En attente »

Dans le mode Dialyse, une troisième touche portant l'inscription « Référence » apparaît à droite à côté de la fenêtre de mesure. Si vous activez la touche « Référence », l'appareil commence une mesure de référence pour calibrer la sonde de dialyse raccordée.




Ill. 66 : Affichage après la mesure de référence

**Référence (uniquement pour Dialyse)**
Il est nécessaire d'effectuer une mesure de référence pour comparer la perméabilité des deux membranes de diffusion dans la cellule de diffusion (qui ne peut être en contact qu'avec les solutions étalons) et dans la sonde de dialyse (qui n'est en contact qu'avec le contenu du bioréacteur). Le rapport des deux membranes entre elles est défini dans un facteur de référence qui est utilisé pour calculer les valeurs.

Vous pouvez à tout moment effectuer une mesure de référence, notamment si des changements dans le processus peuvent avoir une influence sur la vitesse de diffusion (par ex. après des changements de température).

Des mesures de référence peuvent également être effectuées de façon régulière, par ex. quand des échantillons sont prélevés pour l'analyse externe concomitante. La valeur mesurée est corrigée à l'aide d'un facteur de référence uniquement si la nouvelle valeur de référence a été saisie et confirmée avec « Suivant ». Jusqu'à ce moment-là, les valeurs de mesure obtenues entre-temps sont toujours calculées avec le facteur de référence actuellement valable et elles sont affichées.

L'appareil démarre avec un facteur de référence de 1,0. Si les deux membranes avaient le même degré de perméabilité, cette valeur serait correcte. La pratique a toutefois révélé qu'il y a des différences dues à la fabrication et aux effets des conditions ambiantes de la sonde.

La comparaison fonctionne de la manière suivante : quand vous appuyez sur la touche « Référence », l'appareil détermine la concentration dans le bioréacteur et propose des valeurs correspondantes (ill. 66).

Vous devez alors vérifier à l'aide d'un échantillon de référence si ces valeurs sont correctes et si nécessaire les corriger. Si vous connaissez les valeurs de concentration (par ex. par pesage), vous pouvez les saisir directement. Vous pouvez également déterminer les concentrations dans le bioréacteur à l'aide d'un échantillon externe avec un analyseur hors ligne.

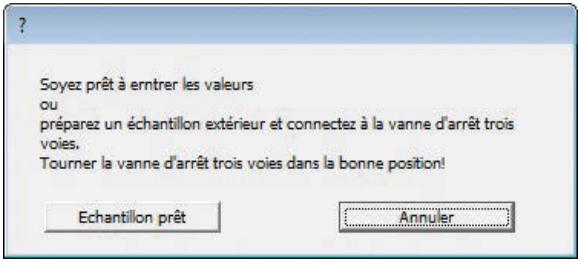
Appuyez sur « Suivant » pour confirmer les valeurs de mesure proposées. Si vous voulez effectuer des modifications, entrez les nouvelles valeurs dans le champ de saisie (avec un point décimal) et confirmez avec « Suivant ».

La fonction « Annuler » permet d'interrompre la procédure et de revenir à l'état initial.

Tant que la fenêtre de saisie est ouverte et qu'aucune nouvelle valeur de référence n'a été saisie et confirmée, le BioPAT® Trace continue à fonctionner avec le facteur de référence actuellement valable.

Si la détermination d'une mesure de référence avec un analyseur externe dure plus longtemps et si l'on peut s'attendre à ce que la concentration du milieu change pendant ce temps-là, vous devez attendre la mesure de référence et seulement ensuite prélever un échantillon pour l'analyse externe. Si la fenêtre de saisie des valeurs de référence apparaît, cela signifie que l'appareil a détecté la concentration actuelle mesurée et va comparer les valeurs saisies ultérieurement avec cette concentration et déterminer le nouveau facteur de référence.

Si vous n'avez pas d'appareil hors ligne pour déterminer les valeurs de référence, vous pouvez également mesurer l'échantillon directement avec le BioPAT® Trace. Pour cela, sélectionnez la fonction « Mesure » et suivez les instructions qui apparaissent dans le menu (ill. 67).


?
Soyez prêt à erntrer les valeurs
ou
préparez un échantillon extérieur et connectez à la vanne d'arrêt trois voies.
Tourner la vanne d'arrêt trois voies dans la bonne position!
Echantillon prêt
Annuler

Ill. 67 : Demande de prélèvement d'un échantillon et connexion au robinet à 3 voies

Prélevez un échantillon sans cellules dans le bioréacteur (au moins 5 ml), mettez cet échantillon dans une seringue de 5 ml et raccordez la seringue au robinet à 3 voies comme représenté sur l'illustration 68. Veillez à ce que le robinet à 3 voies soit en position correcte : les flèches du robinet doivent être dirigées vers la marque verte du tuyau et vers la seringue.

Ill. 68 : Raccordement de l'échantillon externe

**Appuyez sur « Echantillon prêt » uniquement si vous êtes sûr que la seringue remplie est raccordée et que le robinet à 3 voies est en position correcte. Dans le cas contraire, des valeurs de mesure erronées peuvent en résulter !**

Déclenchez la mesure de l'échantillon externe avec « Echantillon prêt ». Trois mesures sont effectuées et la moyenne est affichée comme résultat. Vous pouvez alors enregistrer, corriger ou rejeter les valeurs mesurées comme décrit plus haut ou effectuer une nouvelle mesure d'un échantillon externe.

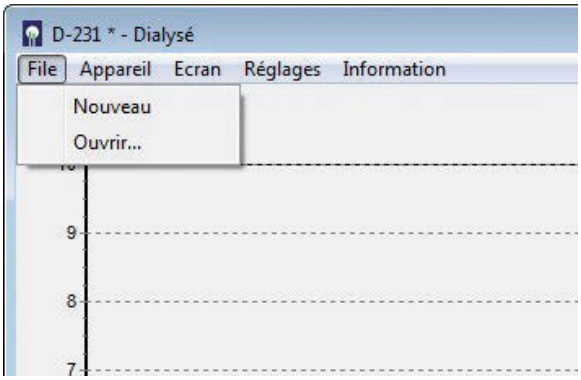
Ill. 69 : Position correcte du robinet à 3 voies

Avant de continuer à travailler, assurez-vous que le robinet à trois voies a été remis en position initiale une fois que l'échantillon externe a été enlevé (ill. 69) afin de mesurer correctement l'étalon 1 lors du prochain calibrage.

**Assurez-vous que le robinet à trois voies est réglé comme sur l'illustration, sinon tous les calibrages suivants et les valeurs de mesure en résultant seront erronés !**

## 7.1 Barre de menu

### 7.1.1 Commande du menu « File » (Fichier)



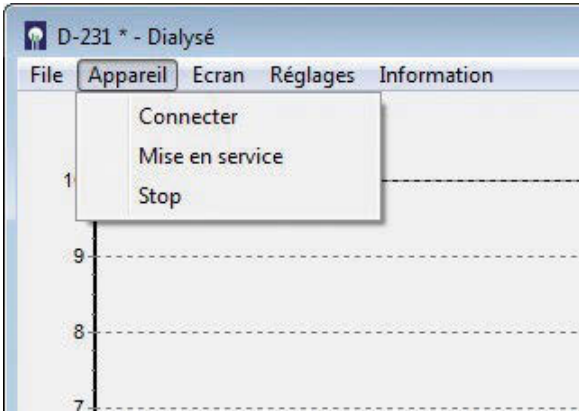

Ill. 70 : Options du menu « File » (Fichier)

Les données de mesure sont enregistrées au format de texte dans un fichier ptd et sont sauvegardées par défaut dans le sous-dossier « Données ». Si vous voulez créer un nouveau fichier, sélectionnez l'option de menu « Nouveau ».

Si vous voulez charger et afficher des données de mesure d'un fichier plus ancien, sélectionnez l'option de menu « Ouvrir... ».

Les données enregistrées peuvent être facilement utilisées, par ex. dans Excel. Vous trouverez des informations sur l'importation sous forme de fichier Excel dans le chapitre 8.5.

### 7.1.2 Commande du menu « Appareil »



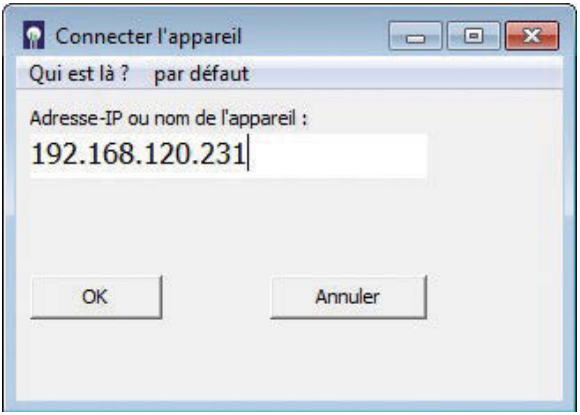

Ill. 71 : Options du menu « Appareil »

Trois options de menu sont disponibles :
« Connecter », « Mise en service » et « Stop » (ill. 71).

#### 7.1.2.1 Connecter

Si vous sélectionnez l'option de menu « Connecter », vous pouvez connecter un nouveau BioPAT® Trace (ill. 72). A cet effet, il faut saisir l'adresse IP de l'appareil.

Si vous avez démarré le logiciel avec l'icône de démarrage qui se trouve sur le bureau, l'adresse IP standard 192.168.120.231 est déjà affichée.



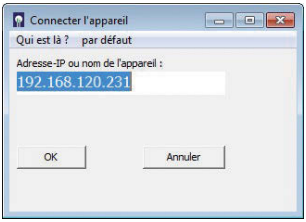

Ill. 72 : Connecter l'appareil

Si une adresse différente a été affectée à votre appareil (par ex. par l'administrateur de votre réseau), saisissez-la ici.

Si vous voulez que cette nouvelle adresse soit automatiquement proposée à l'avenir, procédez de la manière décrite au paragraphe ▶ « 6.5 Modification des réglages de démarrage » à la page 81.

Ill. 73 :
Affichage de la connexion

Si vous avez saisi l'adresse IP correcte et que l'appareil se trouve dans le réseau, il est connecté à l'ordinateur de commande et un astérisque apparaît derrière le nom de l'appareil ou du numéro de série sur la barre d'affichage.



Ill. 74 : Rechercher dans le réseau

Il est également possible de rechercher des appareils dans le réseau en appuyant sur « Qui est là ? ». Les résultats s'affichent au bout d'un certain temps et vous pouvez sélectionner l'appareil souhaité. Appuyez ensuite sur « OK ».

Si le programme ne trouve pas d'appareils, un message d'erreur apparaît. Essayez alors de saisir directement l'adresse IP ou adressez-vous à l'administrateur de votre réseau.

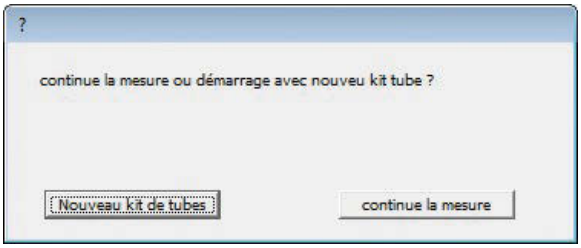
#### 7.1.2.2 Mise en service

Si vous changez le set de tuyaux, vous devez appeler l'option de menu « Mise en service ». « Mise en service » désactive les données de calibrage et de référence utilisées jusqu'à présent et exige un nouvel amorçage du système de tuyaux.

#### 7.1.2.3 Stop

L'option « Stop » sert à mettre provisoirement le système hors service, par ex. en cas d'interruptions du bioprocessus à contrôler, en cas de brèves interruptions du fonctionnement ou pour connecter des réacteurs enzymatiques (voir le chapitre 6.2.5, page 52). Vous pouvez interrompre le mode de mesure et l'état « En attente » en sélectionnant l'option de menu « Stop ». Toutes les pompes sont arrêtées et les vannes sont désactivées. Dans ce cas, l'appareil conserve les données enregistrées pour les valeurs de calibrage et de référence.

Quand vous appuyez sur le bouton « Stop », le BioPAT® Trace passe à l'arrêt. Vous pouvez désormais fermer le programme. L'appareil peut également être éteint avec l'interrupteur principal sans perte de données. Quand vous remettez l'appareil en marche ou que vous redémarrez le programme de commande, l'invite représentée sur l'illustration 75 apparaît.



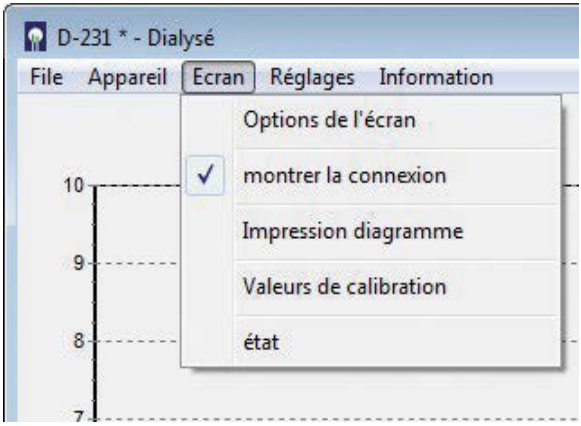

Ill. 75 : Fenêtre d'invite lors du redémarrage après « Stop »

Si vous appuyez sur le bouton « Continue la mesure », le système est directement prêt à fonctionner. Il n'effectue pas de rinçage ni de calibrage. Les anciennes valeurs de calibrage sont conservées.

**Appuyez sur « Continue la mesure » uniquement si vous êtes certain qu'il règne les mêmes conditions qu'avant l'arrêt (par ex. en cas de brèves interruptions). Si ce n'est pas le cas, on peut obtenir des valeurs erronées !**

En cas d'interruptions prolongées (par ex. la nuit), il est conseillé d'effectuer un calibrage avant de continuer d'autres mesures.

### 7.1.3 Commande du menu « Ecran »



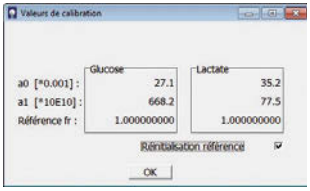

Ill. 76 : Options du menu « Ecran »

Si l'option de menu « Montrer la connexion » est activée, un astérisque indique que l'ordinateur de commande communique correctement avec l'analyseur BioPAT® Trace.

Pour imprimer le diagramme actuellement affiché sur une imprimante, sélectionnez l'option de menu « Impression diagramme ».

Si vous sélectionnez l'option de menu « Valeurs de calibrage », une fenêtre s'ouvre avec les valeurs de calibrage actuelles (ill. 77).

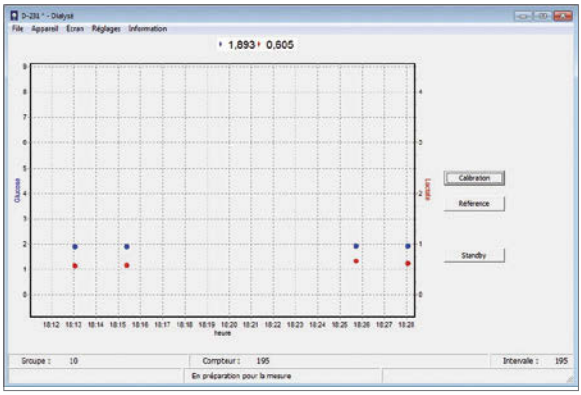
Les intersections de l'axe (« a0 »), la pente de calibrage (« a1 » ) et les facteurs de référence (« Référence fr ») sont affichés.




Ill. 77 : Affichage des valeurs de calibrage actuelles

Si vous activez l'option « Réinitialisation référence », les facteurs de référence sont réinitialisés sur le facteur 1,0 (uniquement dans le mode Dialyse).

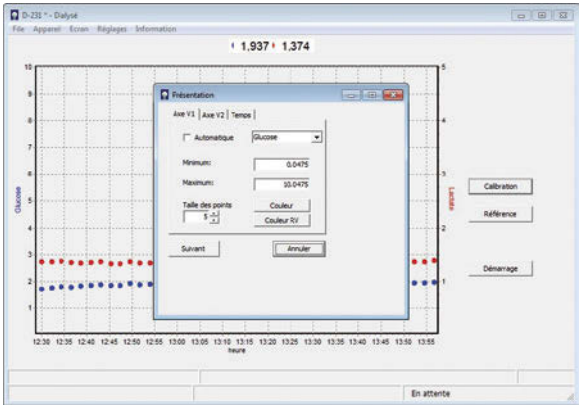
Si vous sélectionnez l'option « Etat », une barre d'infos donnant des informations sur l'état actuel dans trois zones apparaît dans le bas de l'écran (ill. 78). Cette fonction est intéressante en cas notamment de longs intervalles ou de mesures groupées. Le nombre des mesures groupées (ou de prémesures) en attente est affiché dans la zone 1. Dans la zone 2, un compteur compte le temps à rebours jusqu'à la fin de l'action actuelle (en secondes). La zone 3 indique le temps restant dans l'intervalle de la période de mesure (en secondes).




Ill. 78 : Affichage de la barre d'état

### 7.1.3.1 Options de l'écran

Vous pouvez modifier la représentation du diagramme dans l'option de menu « Options de l'écran ». Cette option permet de régler la grosseur et la couleur des points ainsi que les échelles de l'axe (ill. 79). Les valeurs du glucose sont représentées par défaut en bleu et celles du lactate en rouge. Un point de couleur verte est réglé pour le méthanol ou l'éthanol.

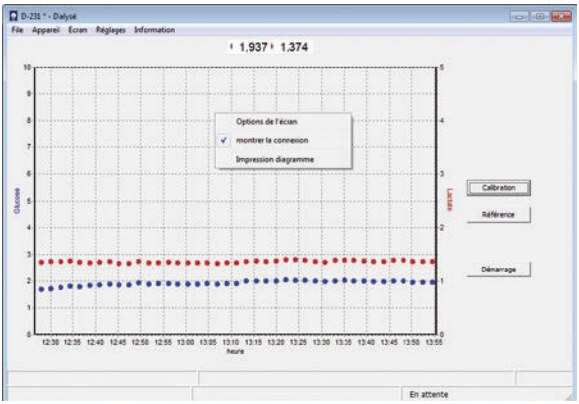



Ill. 79 : Affichage pour l'adaptation de la représentation des valeurs mesurées

Pendant le fonctionnement, il est possible de modifier à tout moment l'affichage des valeurs mesurées. Pour cela, cliquez droit pour faire apparaître le champ de saisie permettant de modifier l'affichage (ill. 80).

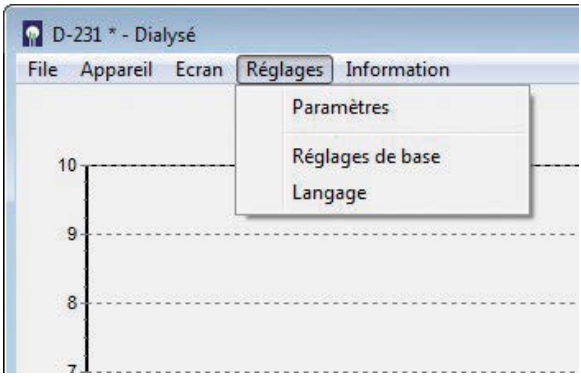
Les options suivantes sont disponibles :

- Déplacer le graphique :
  maintenir le bouton droit de la souris enfoncé et déplacer.
- Zoomer :
  tirer la fenêtre de l'angle supérieur droit vers l'angle inférieur gauche (maintenir le bouton gauche de la souris enfoncé).
- Retour à l'affichage de départ :
  tirer la fenêtre de l'angle inférieur gauche vers l'angle supérieur droit (maintenir le bouton gauche de la souris enfoncé).




Ill. 80 : Affichage de la courbe de la valeur mesurée

### 7.1.4 Commande du menu « Réglages »



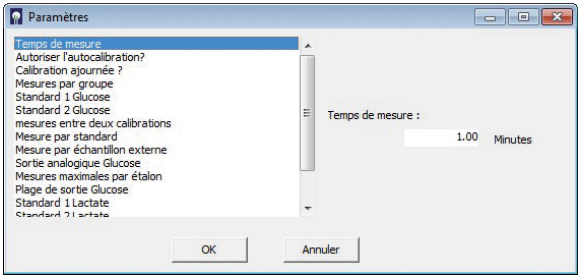

Ill. 81 : Options du menu « Réglages »

La commande du menu « Réglages » permet d'effectuer les principaux réglages pour le fonctionnement et la communication de l'appareil :

– « Paramètres »
  Cette option permet de régler la fréquence de mesure, la fréquence du calibrage, la concentration des solutions étalons, etc. de manière spécifique à l'utilisateur.
– « Réglages de base »
  Cette option permet de régler l'appareil sur la méthode de prélèvement choisie. L'utilisateur peut également donner des indications sur l'appareil et le projet, qui seront utilisées ultérieurement lors de l'édition des données.
– « Langue »
  Cette option permet de modifier la langue du menu.

7.1.4.1 Paramètres

Sous l'option de menu « Paramètres », vous pouvez régler tous les paramètres importants pour le mode de mesure (ill. 82).




Ill. 82 : Champ de saisie du réglage des paramètres de mesure

- Temps de mesure
  - Indiquez ici l'intervalle de mesure souhaité. Avec la valeur 1, une mesure a lieu toutes les minutes ou à la fréquence maximale. Pour effectuer une analyse par heure, il faut par exemple saisir 60.
  - Vous pouvez à tout moment modifier la fréquence. Quand vous confirmez avec « OK », la modification est immédiatement active.

- Autocalibrage
  Sélection oui|non. Si vous autorisez l'autocalibrage, un recalibrage automatique a lieu toutes les × mesures (voir : mesures entre les calibrages).

- Calibrage ajourné ?
  Normalement, un calibrage est effectué au bout d'un certain nombre de mesures. En cas de très longs intervalles (par ex. des mesures toutes les 6 heures dans des cultures cellulaires), il y a donc un très long moment entre le calibrage actuel et la mesure suivante.

Si vous activez l'option de calibrage retardé, le calibrage aura lieu juste avant la mesure suivante si bien que le système disposera alors d'une valeur de calibrage actuelle.

– Mesures par groupe
  En cas de plus grands intervalles de mesure, il peut être utile d'effectuer au moment correspondant plusieurs mesures les unes après les autres avec une fréquence maximale. Un groupe de 10 mesures peut par exemple avoir lieu toutes les 6 heures. Le nombre de valeurs mesurées dans le groupe peut être réglé dans cette option. Aucune valeur moyenne n'est calculée. Chaque valeur mesurée est éditée directement après la mesure. Si le temps nécessaire pour effectuer le groupe est plus long que la période de mesure, le groupe suivant commence avec le nouvel intervalle de mesure.

Chaque mesure d'un groupe est prise en compte pour déterminer le nombre de mesures entre les calibrages. Il faut en tenir compte lors de la sélection des réglages de calibrage !

– Valeurs étalons (glucose et lactate)
  Saisissez ici les concentrations des solutions étalons sélectionnées et raccordées pour votre application.

– Mesures entres deux calibrages
  Ici, vous pouvez définir le nombre de mesures au bout duquel un calibrage automatique doit avoir lieu. Cela n'est toutefois possible que si vous avez activé le calibrage automatique.

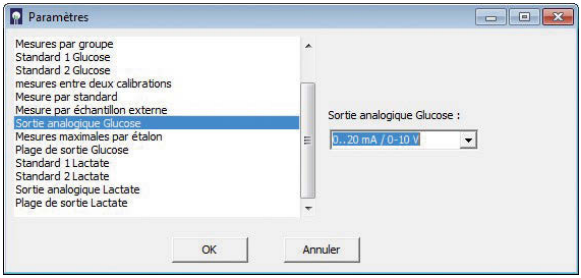
**Vous pouvez à tout moment déclencher un calibrage en appuyant sur la touche « Calibrage ».**

**Si vous modifiez les indications d'autocalibrage pendant le fonctionnement, les modifications ne seront effectives que pour le calibrage suivant.**

- Mesures par standard
  Avec cette fonction, vous pouvez définir le nombre de mesures par étalon. Une minute est nécessaire par mesure d'une valeur de calibrage. Un calibrage normal avec 3 mesures par étalon dure donc 6 minutes (plus temps de rinçage pour le changement de milieu).

- Facteur de sortie Glucose Facteur de sortie Lactate
  Ici, vous pouvez régler les plages de sortie des sorties analogiques. La procédure est la suivante : La limite supérieure de la gamme de mesure est toujours indiquée. La limite inférieure est réglée par défaut sur 0.

  Avec une gamme de mesure souhaitée de par ex. 0-10 g/l de glucose, 10 (limite supérieure) est réglé pour la gamme de sortie Glucose. Quand on sélectionne la gamme de tension 0 – 10 V, 10 volts correspondent alors à 10 g/l de glucose.



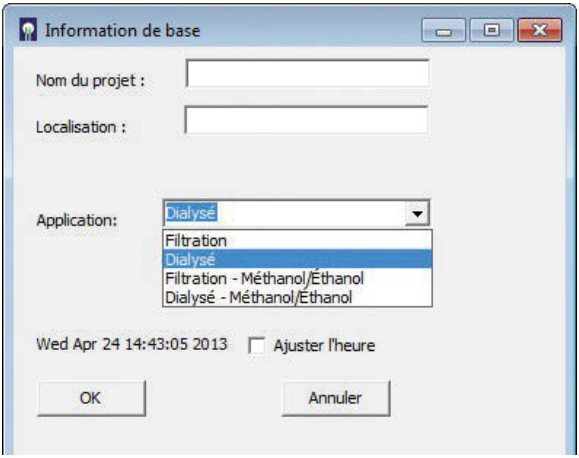

Ill. 83 : Commutation de la sortie analogique

Ici, vous pouvez commuter la sortie des signaux sur les sorties analogiques entre 0-20 mA et 4–20 mA ainsi qu'entre 0-10 V et 2-10 V (ill. 83).

### 7.1.4.2 Réglages de base

L'option du menu « Réglages de base » permet d'effectuer des saisies importantes pour l'exécution et la documentation des mesures (ill. 84).
Avant d'effectuer la mesure, il est possible de saisir le nom du projet, la localisation de l'appareil et l'ID de l'utilisateur.

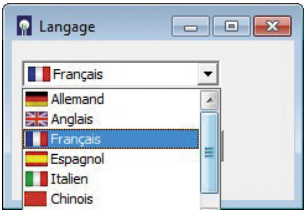
L'option la plus importante est la sélection de l'application utilisée. Vous avez le choix entre Filtration, Dialyse pour la détermination du glucose et du lactate, ainsi que Filtration-Méthanol | éthanol et Dialyse-Méthanol | éthanol.




Ill. 84 : Champ de saisie des réglages de base

**Avant de travailler avec un nouveau set de tuyaux, vérifiez toujours si l'application correcte a été sélectionnée. Sinon vous obtiendrez des valeurs erronées ou le set de tuyaux sera endommagé !**

Si vous cochez « Ajuster l'heure », vous pouvez synchroniser l'heure de votre PC et celle du BioPAT® Trace. L'heure du système du PC est alors réglée dans le BioPAT® Trace.



Ill. 85 : Fenêtre de sélection de la langue

7.1.4.3 Langue
Vous pouvez sélectionner la langue dans l'option de menu « Langue » (ill. 85).

### 7.1.5 Option du menu Information
Quand vous ouvrez l'option de menu « Information », les numéros de version actuels du logiciel du BioPAT® Trace et du logiciel de commande sont affichés.

### 7.2 Messages d'état des LED

Des LED sur la face avant de l'appareil indiquent les différents états de fonctionnement afin que vous puissiez également consulter l'état de l'appareil directement sur BioPAT® Trace indépendamment du logiciel installé sur un PC raccordé. Le tableau 4 ci-après donne un aperçu des signaux LED :

| Etat | Action | LED1 (verte) | Couleur LED 2 | Etat LED 2 |
|---|---|---|---|---|
| **Mise en marche et arrêt** | | | | |
| Procédure de boot | | allumée | blanc | allumée |
| Arrêt | | allumée | cyan | allumée |
| Remplissage | | allumée | cyan | clignote |
| Prémesure | | allumée | vert \| cyan | clignote |
| **Mode de mesure** | | | | |
| Mode de mesure | chargée | allumée | vert | allumée |
| Mode de mesure | déchargée | allumée | vert | clignote |
| **Pauses** | | | | |
| En attente | en attente | allumée | jaune | allumée |
| Intervalle | au repos | allumée | jaune | clignote |
| **Procédures de rinçage** | | | | |
| Changement de milieu | | allumée | magenta | allumée |
| Rinçage sonde | | allumée | magenta | clignote |
| **Calibrages** | | | | |
| Calibrage | chargée | allumée | bleu | allumée |
| Calibrage | déchargée | allumée | bleu | clignote |
| Référence | chargée | allumée | bleu | allumée |
| Référence | déchargée | allumée | bleu | clignote |
| **Erreurs** | | | | |
| Pas de connexion réseau | | allumée | rouge | allumée |

Tableau 6 : Messages d'état des LED

# 8. Conseils et liste de contrôle

**8.1 Sélection des solutions étalons adaptées**
Différentes combinaisons de solutions de calibrage sont disponibles pour permettre de couvrir les évolutions de concentration escomptées de manière optimale. Nous conseillons de connecter comme étalon 1 à chaque fois l'étalon ayant la concentration la plus élevée.

Selon les conditions du processus et les objectifs de la culture, il faut couvrir différentes gammes de concentration. En principe, la gamme de concentration doit se trouver entre les concentrations des solutions étalons afin de garantir une précision de mesure optimale. De plus, il est toujours conseillé de sélectionner une solution étalon avec une concentration très faible pour déterminer avec fiabilité des valeurs proches de zéro.

En cas de régulations, les concentrations des étalons de calibrage ne doivent pas être trop éloignées du point de régulation. Pour une régulation à 1g/l, il est par exemple plus judicieux de travailler avec une combinaison de 0,5 g/l et de 4 g/l qu'avec 1 g/l et 10 g/l.

**8.2 Mode Dialyse : mesures de référence au début d'une fermentation**
Avec la méthode de dialyse, il est nécessaire d'effectuer des mesures de référence pour comparer la perméabilité des membranes à l'intérieur du réacteur et à l'extérieur dans la cellule de diffusion et pour compenser les différences de température entre

les deux membranes. Pour la qualité des résultats de mesure, il est donc très important de déterminer le facteur de référence avec fiabilité.

Il est par conséquent conseillé de déterminer la valeur de référence le plus tôt possible au début de la culture et d'utiliser pour cela une phase sans variations de concentration dans le milieu. A cet effet, désactivez l'autocalibrage et réglez d'abord l'intervalle de mesure sur 1. Ensuite, observez quelques valeurs mesurées. Si elles ne varient pas trop et sont les plus constantes possibles, vous pouvez démarrer la mesure de référence. Après les mesures de référence, vous devez encore attendre que quelques mesures aient lieu et vérifier si les valeurs nouvellement calculées répondent à vos attentes. Le cas échéant, vous pouvez également répéter la mesure de référence. Si vous êtes d'accord avec le résultat, vous pouvez à nouveau modifier les paramètres de mesure et commencer la culture.

### 8.3 Mode Dialyse : mesures de référence avec de faibles concentrations de lactate

Dans de nombreux cas, le glucose est en excédent au début d'une culture et le milieu ne contient pas (encore) de lactate. Lors des mesures de référence, le BioPAT® Trace propose, après la mesure de référence, une valeur qui est en général remplacée par la saisie de la valeur connue (connue à partir de la composition du milieu ou déterminée avec un analyseur externe). Si la concentration de lactate présente est encore très faible, ne remplacez pas encore cette valeur (le facteur de référence pour le lactate reste alors à 1,0). Dans la suite de la culture, il est alors plus facile d'observer l'augmentation de la concentration de lactate et d'effectuer en temps utile une mesure de référence normal au cours de laquelle les deux valeurs seront écrasées.

### 8.4 Eviter des contaminations dans le set de tuyaux

Si les processus durent plus longtemps (semaines), il se peut qu'avec le temps un biofilm se forme dans le set de tuyaux. Cela peut boucher les lignes ou entraîner de grandes variations des valeurs mesurées. Cela est le cas en particulier quand on rajoute sans cesse de la solution fraîche dans le récipient de stockage de la solution de transfert diluée prête à l'emploi. Il est préférable de remplacer entièrement le récipient presque vide par un nouveau récipient contenant de la solution fraîche afin d'éviter de la propagation des germes.
Des germes peuvent également parvenir dans le set de tuyaux par la ligne de rinçage de la cellule de mesure quand les bulles d'air sont éliminées de la chambre de mesure. Par conséquent, utilisez uniquement des solutions fraîches et | ou une unité de filtration stérile.

Dans quelques cas de cultures de longue durée, on a observé que des biofilms se forment dans la ligne de déchets et se répandent jusqu'aux chambres compte-gouttes. Dans ce cas également, il est conseillé de remplacer régulièrement les récipients à déchets et d'empêcher l'immersion de la ligne de déchets dans les déchets. Pour assurer une protection supplémentaire, il est également possible d'ajouter une solution désinfectante dans le récipient à déchets (voir les consommables, tableau 3).

Avec la méthode de filtration, la solution désinfectante peut même être ajoutée directement dans le tampon de transfert (0,5% V/V). On obtient ainsi la protection la plus efficace possible contre les contaminations. Cette procédure n'est malheureusement pas possible pour la méthode de dialyse, car la solution de transfert se trouve derrière la membrane de dialyse et le désinfectant peut alors parvenir directement dans le réacteur à travers la membrane.

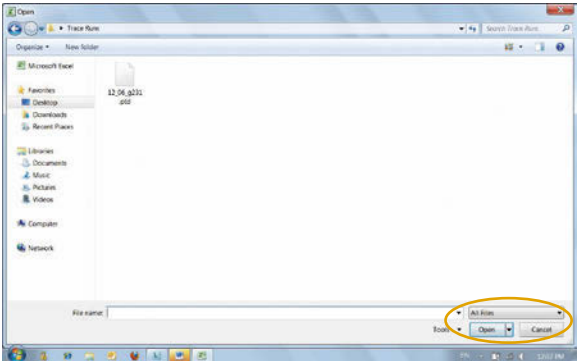
## 8.5 Importation des données vers Excel

Les valeurs mesurées par le BioPAT® Trace sont enregistrées sur l'ordinateur sous forme de fichier ptd. Les données peuvent être importées pour être analysées sur Excel. L'importation des données du fichier ptd vers Excel a lieu en sept étapes :

1. **Ouvrez le programme MS Excel.**

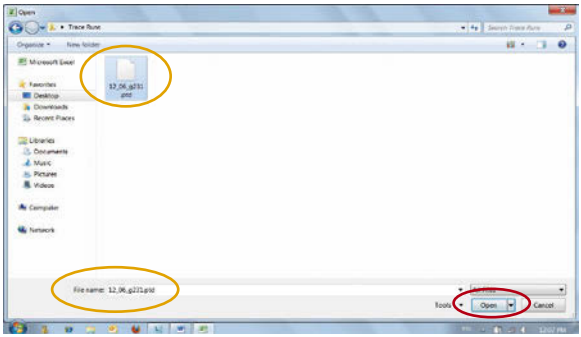
2. **Sélectionnez Fichier | Ouvrir**
   et sélectionnez le dossier dans lequel le fichier ptd est enregistré.

3. **Activez « Tous les fichiers » (marque orange).**



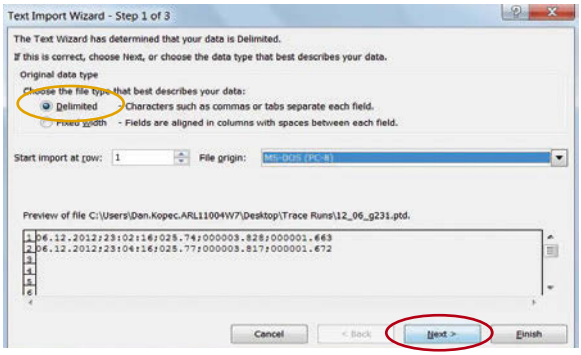

Ill. 86 : Importation des données du fichier ptd dans Excel. Activez « Tous les fichiers ».

**4. Sélectionnez le fichier ptd (marque orange).**
Pour confirmer cette sélection, appuyez sur la touche « Ouvrir » (marque rouge).



Ill. 87 : Importation des données du fichier ptd dans Excel « Sélection du fichier ptd »

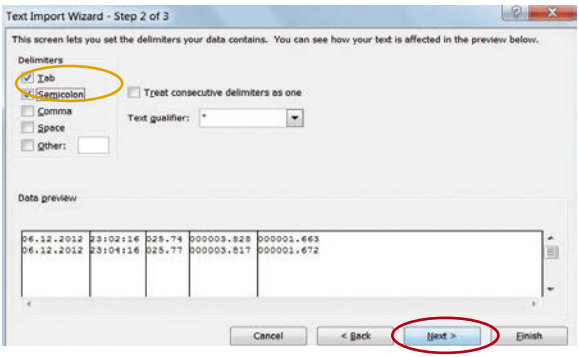
**5. Assistant de conversion de texte (étape 1)**
Ensuite, l'assistant de conversion de texte démarre. Le fichier est lu en trois étapes. Au cours de la première étape de l'assistant de conversion de texte, sélectionnez le champ « Séparé » (marque orange). Pour terminer cette étape, appuyez sur la touche « Suivant » (marque rouge).


Text Import Wizard - Step 1 of 3
The Text Wizard has determined that your data is Delimited.
If this is correct, choose Next, or choose the data type that best describes your data.
Original data type
Choose the file type that best describes your data:
Delimited - Characters such as commas or tabs separate each field.
Fixed width - Fields are aligned in columns with spaces between each field.
Start import at row: 1
File origin:
Preview of file C:\Users\Dan.Kopec.ARL11004W7\Desktop\Trace Runs\12_06_g231.ptd.
1 06.12.2012;23:02:16;028.74;000003.828;000001.663
2 06.12.2012;23:04:16;028.77;000003.817;000001.672
Cancel
< Back
Next >
Finish

Ill. 88 : Importation des données du fichier ptd dans Excel, assistant de conversion de texte, étape 1

### 6. Assistant de conversion de texte (étape 2)

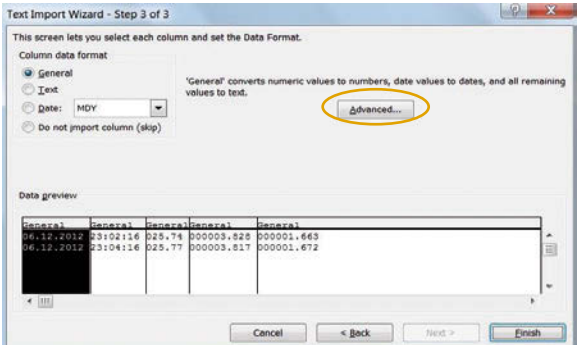
Au cours de cette étape, sélectionnez le séparateur « point-virgule » (marque orange) et appuyez sur la touche « Suivant » pour confirmer (marque rouge).




Ill. 89 : Importation des données du fichier ptd dans Excel, assistant de conversion de texte, étape 2

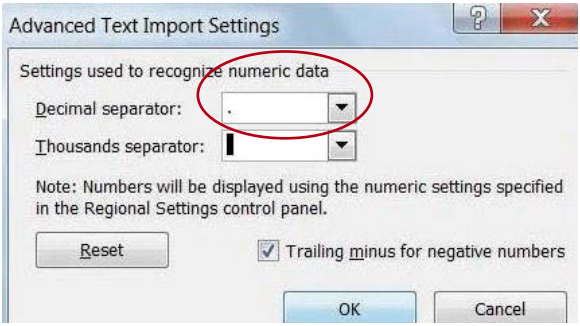
### 7. Assistant de conversion de texte (étape 3)

Au cours de cette étape, sélectionnez l'option « Autres » (marque orange).


Text Import Wizard - Step 3 of 3
This screen lets you select each column and set the Data Format.
Column data format
General
Text
Date: MDY
Do not import column (skip)
'General' converts numeric values to numbers, date values to dates, and all remaining values to text.
Advanced...
Data preview
General General General General General
06.12.2012 23:02:16 025.74 000003.828 000001.663
06.12.2012 23:04:16 025.77 000003.817 000001.672
Cancel
< Back
Next >
Finish

Ill. 90 : Importation des données du fichier ptd dans Excel, assistant de conversion de texte, étape 3

Ici, vous pouvez sélectionner « Autres réglages d'importation de texte ». Réglez le point « . » comme séparateur décimal et un espace comme séparateur des milliers (marque rouge).




Ill. 91 : Importation des données du fichier ptd dans Excel « Autres réglages d'importation de texte »

Après avoir confirmé cette fenêtre avec « OK », appuyez sur « Suivant » pour confirmer également l'étape 3 de l'assistant de conversion de texte. Les données du fichier ptd sont désormais disponibles dans un tableau Excel.

## Liste de contrôle pour la mise en service

| Etape | Opération | Chapitre | Page | Illustration | Liste de contrôle |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | Installer le logiciel PC (uniquement lors de la première mise en service) | 6.3 et 6.4 | 77, ... | 59 – 61 | |
| | Accéder à la page Internet de l'appareil | | 77 | – | |
| | Télécharger le programme d'installation | | 77, ... | – | |
| | Exécuter le programme d'installation | | 78, ... | – | |
| | Régler l'adresse IP et le masque sous-réseau | | 79 | 59 – 61 | |
| 1 | Préparer les sondes | 6.2.6 et 6.2.7 | 55, ... | 37 – 58 | |
| | Installer la membrane | | 55, ... \| 64, ... | 37 – 40 \| 50 – 53 | |
| | Uniquement pour la filtration : hydrophilisation de la membrane avec de l'isopropanol | | 69, ... | 54 – 56 | |
| | Installer la sonde dans le réacteur (et stérilisation si nécessaire) | | 58, ... \| 74, ... | 41 – 43 \| – | |
| 2 | Préparer le tampon de transfert et le récipient à déchets | 6.2.2 et 8.4 | 44 \| 111 | – | |
| | Diluer du concentré de tampon et le conserver dans une bouteille | 6.2.2 | 42 | – | |
| | Le cas échéant, préparer le récipient à déchets avec du désinfectant | 8.4 | 111 | – | |
| 3 | Raccorder les tuyaux sur l'appareil | 6.2.2 à 6.2.4 | 42, ... | 17 – 33 | |
| | Insérer et écarter légèrement les plaques de guidage | | 45, ... | 19 | |
| | Insérer et tendre les tuyaux des vannes dans les fentes des vannes | | 46 | 20 – 22 | |
| | Pousser les plaques de guidage vers les vannes pour fixer les tuyaux | | 47 | 23 | |
| | Insérer et enclencher les pompes | | 47, ... | 24 – 26 | |
| | Insérer la cellule de mesure dans son logement et la fixer avec un écrou moleté | | 48, ... | 28 – 29 | |
| | Installer le module de diffusion | | 50 | 30 | |
| | Mettre en place des chambres compte-gouttes | | 50 | 31 | |
| | Uniquement pour la dialyse : raccorder le robinet à 3 voies (en option) | | 51 | 32 – 33 | |

| Etape | Opération | Chapitre | Page | Illustration | Liste de contrôle |
|---|---|---|---|---|---|
| 4 | Raccorder les lignes d'arrivée et de sortie | 6.2.2 | 44 | – | |
| | Raccorder les tuyaux au tampon de transfert | | 44 | – | |
| | Raccorder les tuyaux aux solutions de calibrage | | 44 | – | |
| | Raccorder la ligne de déchets au récipient à déchets | | 44 | – | |
| 5 | Mettre l'appareil en marche | 7 | 85 | – | |
| | Mettre en marche l'interrupteur principal à l'arrière de l'appareil | 7 | 85 | – | |
| | Attendre le boot de l'ordinateur interne (la LED blanche devient rouge) | 7.2 | 108 | – | |
| 6 | Démarrer le logiciel du PC | 7 | 85, ... | 63 – 73 | |
| | Double-cliquer sur l'icône de démarrage sur le bureau (trace-mon) | | 85 | 63 | |
| | Attendre l'établissement automatique de la connexion ou connecter l'appareil | 7 et 7.1.2.1 | 85 \| 93, ... | 72 | |
| | Sélectionner le démarrage avec « Nouveau kit de tubes » | | 96 | 73 | |
| 7 | Régler les paramètres de fonctionnement (menu « Réglages ») | 7.1.4 | 101, ... | 79 – 80 | |
| | Réglages de base | 7.1.4.2 | 105, ... | 82 | |
| | Sélectionner la méthode de mesure (Filtration, Dialyse) | | 105, ... | 82 | |
| | Paramètres de mesure | 7.1.4.1 | 102, ... | 80 – 81 | |
| | Régler la période de mesure | | 102 | – | |
| | Saisir les valeurs des étalons de calibrage | | 103 | – | |
| | Créer un fichier pour enregistrer les valeurs mesurées | 7.1.1 | 92 | 70 | |
| 8 | Raccorder la sonde de prélèvement | 6.2.6.4 et 6.2.7.9 | 60 \| 76 | 44 – 45 \| 57 – 58 | |
| | Raccorder la sonde de filtration ou de dialyse aux tuyaux | | 60 \| 76 | 44 – 45 \| 57 – 58 | |
| 9 | Démarrer les mesures | 7 | 85, ... | 64 – 65 | |
| | Activer la touche « Amorçage » et attendre le calibrage | | 86, ... | 64 – 65 | |

| Etape | Opération | Chapitre | Page | Illustration | Liste de contrôle |
|---|---|---|---|---|---|
| | Alternative : activer l'option « Démarrer automatiquement » – après le remplissage et le calibrage, l'appareil passe automatiquement en mode de fonctionnement | | 86, ... | 64 – 65 | |
| 10 | Uniquement pour méthanol \| éthanol : connecter un réacteur enzymatique | 6.2.5 | 52, ... | 34 – 36 | |
| | Installer le réacteur enzymatique sur le set de tuyaux | | 52, ... | 34 – 36 | |
| 11 | Contrôler la chambre de mesure | 5.3 et 6.2.6.4 | 34 \| 60 | - | |
| | Contrôler l'absence de bulles d'air dans la chambre de mesure \| si nécessaire, rincer | | 34 \| 60 | - | |
| 12 | Uniquement pour la dialyse : effectuer une mesure de référence | 7 | 88, ... | 66 – 69 | |
| | Mesure de référence avec échantillon externe ou valeur de mesure connue | | 88, ... | 66 – 69 | |
| 13 | En option : connecter la sortie analogique au système PLC | 6.6 | 82 | 62 | |
| | Connecter la sortie analogique (0 – 10 V, 4 – 20 mA ou 0 – 20 mA) | | 82 | 62 | |

Tableau 7 : Liste de contrôle pour la mise en service

# 9. Aide en cas d'erreurs

Si vous ne parvenez pas à démarrer l'analyseur BioPAT® Trace ou si des dysfonctionnements se produisent pendant l'utilisation, vous devez en général faire appel à des utilisateurs expérimentés qui se chargeront de l'entretien ou à des membres du SAV du fabricant qui effectueront des réparations.

**Pour éviter tout danger de mort dû à une décharge électrique,**
- **seuls des membres du personnel qualifiés et agréés sont autorisés à intervenir sur l'équipement électrique !**
- **vous ne devez remédier vous-même à des dysfonctionnements que s'il est manifeste qu'ils ont été provoqués par des erreurs d'utilisation ou de maintenance !**
- **n'essayez jamais de remédier à des dysfonctionnement de l'équipement électrique !**

En cas de problèmes avec l'analyseur BioPAT® Trace, veuillez d'abord lire attentivement les tableaux 8 et 9 suivants qui vous donnent un aperçu des erreurs possibles :

| Erreur \| Message d'erreur | Cause possible |
|---|---|
| Le calibrage a échoué | L'étalon de calibrage est vide |
| | Le tampon de transfert est vide |
| | Bulle d'air dans la chambre de mesure |
| | Utilisation du mauvais set de tuyaux |
| | Cellule de mesure pas correctement installée |
| | Une mauvaise méthode a été sélectionnée |
| | Tuyaux des vannes mal ou pas insérés |
| | Uniquement pour Dialyse : robinet à3 voies mal réglé |
| | Set de tuyaux trop vieux |
| | Fuite dans le set de tuyaux |
| | Ligne de calibrage bloquée ou set de tuyaux bouché |
| | Les versions des logiciels de l'appareil \| du PC ne sont pas compatibles |
| | La vanne (jaune) ne fonctionne pas |
| Valeur de mesure trop élevée ou trop basse | Calibrage défectueux |
| | L'entrée du paramètre « Standard » et l'étalon véritable ne correspondent pas |
| | Bulle d'air dans la chambre de mesure |
| | Le tampon de transfert est vide |
| | Fuite dans le set de tuyaux |
| | Uniquement pour Dialyse : mesure de référence pas effectuée |
| | Uniquement pour Dialyse : mesure de référence pas actuelle |
| Pas de valeur de mesure ou valeur négative | Cellule de mesure pas correctement installée |
| | Le tampon de transfert est vide |
| | Set de tuyaux bouché |
| | Fuite dans le set de tuyaux |
| | Set de tuyaux trop vieux |
| | Pas de sonde de prélèvement connectée ou mauvaise sonde connectée |

| Erreur \| Message d'erreur | Cause possible |
|---|---|
| La valeur mesurée varie fortement | Bulle d'air dans la chambre de mesure |
| | Cellule de mesure pas correctement installée |
| | Set de tuyaux trop vieux |
| | Filtration : sonde de prélèvement bouchée et \| ou tuyau de la vanne verte pas correctement inséré |
| Pas de connexion avec Trace mon | Adresse IP pas correctement réglée |
| | PC : adresse IP pas affectée automatiquement |
| | Mauvais câble d'alimentation ou câble défectueux |
| | L'appareil démarre, mais pas le programme |
| La pompe ne tourne pas | Enlever la cassette de la pompe et nettoyer l'arbre du moteur |
| | Bien tendre le tuyau de la pompe |
| Pas de débit | Le tampon de transfert est vide |
| | L'étalon de calibrage est vide |
| | Sonde de filtration colmatée |
| | Filtre bouché |
| | Set de tuyaux bouché |
| | Fuite dans le set de tuyaux |

Tableau 8 : Description et élimination des problèmes sur BioPAT® Trace

**Message d'erreur : Le calibrage a échoué**

| | Cause possible | Que faire? |
|---|---|---|
| 1. | Le tampon de transfert est vide (Y a-t-il encore assez de tampon de transfert dans le récipient de stockage ? Le tuyau d'aspiration est-il encore dans le récipient de stockage ? Le tampon goutte-t-il dans les chambres compte-gouttes ?). | Raccorder un nouveau tampon de transfert et remplir le set de tuyaux. |
| 2. | Une solution de calibrage est vide. | Raccorder une nouvelle solution de calibrage. |
| 3. | Les tuyaux en silicone ne sont pas correctement insérés dans les vannes. | Vérifiez l'installation des tuyaux des vannes et si nécessaire la corriger. |
| 4. | Il y a une bulle d'air dans la chambre de mesure. | Enlever la bulle d'air à l'aide d'une seringue via la ligne de rinçage. |
| 5. | Le set de tuyaux et l'application réglés ne sont pas compatibles (par ex. set de tuyaux Dialyse installé et Filtration réglée sur l'appareil). | Régler l'application correctement. |
| 6. | Un tuyau est écrasé (par ex. en vissant les couvercles sur les bouteilles de solution étalon). | Veiller à ce que les tuyaux ne soient pas écrasés. |
| 7. | Set de tuyaux bouché (des sels se cristallisent quand du tampon séjourne longtemps dans le set de tuyaux. La plupart du temps, ces cristallisations se produisent dans les tuyaux en silicone dans les vannes. Les tuyaux peuvent également être bouchés par une croissance microbienne). | Déboucher les tuyaux ou, si ce n'est pas possible, utiliser un nouveau set de tuyaux. |
| 8. | Fuite (les tuyaux peuvent éclater si on ne débouche pas les tuyaux). | Remédier à la fuite ou, si ce n'est pas possible, utiliser un nouveau set de tuyaux. |
| 9. | Pas de contact au niveau du capteur (si le capteur n'est pas correctement installé, sa face arrière n'a pas de contact électrique avec le logement). | Démonter le capteur et le remettre en place correctement. |

| | Cause possible | Que faire? |
|---|---|---|
| 10. | La membrane de dialyse a été mal installée dans la sonde (seulement pour l'application DIALYSE). | Installer correctement une nouvelle membrane de dialyse dans la sonde. |
| 11. | Le robinet à 3 voies a été mal réglé (seulement pour l'application DIALYSE. Un échantillon externe a été mesuré et le robinet à 3 voies n'a pas été réinitialisé). | Mettre le robinet à 3 voies dans sa position initiale. |
| 12. | Les versions du logiciel de BioPAT® Trace et du PC ne sont pas compatibles. | Utiliser un logiciel adapté. Si nécessaire, réinstaller le logiciel PC « trace_mon » à partir du site Internet. |

Tableau 9 : Erreurs de calibrage et remèdes

# 10. Entretien

## 10.1 Appareil

Si vous interrompez une série de mesures pour une brève période (au maximum deux jours), vous pouvez redémarrer le système sans remplacer le set de tuyaux. En revanche si vous mettez l'analyseur BioPAT® Trace hors service pour une période plus longue (plus de 7 jours), vous devez ensuite changer le set de tuyaux.

**Pour nettoyez la surface du boîtier du BioPAT® Trace, utilisez uniquement un chiffon humide.**

## 10.2 Set de tuyaux

Remplacez les sets de tuyaux bouchés ou endommagés.

**A chaque fois que vous mettez le système en service, vérifiez que toutes les connexions avec des raccords Luer-Lock ou UN sont étanches et si nécessaire resserrez les connexions.**

# 11. Annexe

## 11.1 Fiche technique

| | |
|---|---|
| Principe de mesure | Enzymatique ampérométrique |
| Gamme de mesure (glucose) | 0,10 – 40 g/l |
| Gamme de mesure (lactate) | 0,05 – 5 g/l |
| Gamme de mesure (méthanol) | 0,5 – 20 g/l |
| Gamme de mesure (éthanol) | 1 – 40 g/l |
| Fréquence de mesure | Jusqu'à 60 valeurs/h |
| Ecart de la valeur mesurée (glucose) | ≤ 3 % pour 5,0 g/l |
| Ecart de la valeur mesurée (lactate) | ≤ 3 % pour 2,5 g/l |
| Gamme de pH du milieu | 4,8 – 9,2 |
| Durée de fonctionnement de l'électrode enzymatique | 30 jours ou 5000 analyses |
| Température ambiante | 15 – 35 °C |
| Humidité de l'air ambiant | 10 – 90 % |
| Interfaces | RS 232, Ethernet |
| PC de commande | Système d'exploitation Windows XP, Windows 7 |
| Sortie analogique | 0..10 V \| 0..20 mA \| 4..20 mA |
| Tension d'entrée | 100..120 \| 220..240 V ~ ; 50/60 Hz |
| Dimensions en mm (L × H × P) | 120 × 170 × 200 |
| Poids | 1,8 kg |

Tableau 10 : Fiche technique

Sartorius Stedim Biotech GmbH
August-Spindler-Strasse 11
37079 Goettingen, Allemagne

Tél. +49.551.308.0
Fax +49.551.308.3289

www.sartorius-stedim.com

Copyright by
Sartorius Stedim Biotech GmbH,
Goettingen, Allemagne.
Tous droits réservés. Toute reproduction, réimpression, traduction ou autre moyen de duplication de cette publication est interdit sans l'autorisation préalable écrite accordée par Sartorius Stedim Biotech GmbH. Les informations, spécifications et illustrations mentionnées dans ce manuel font référence à la date de version indiquée sise en bas de page. Sartorius Stedim Biotech GmbH se réserve le droit d'apporter toute modification à la technologie, aux caractéristiques, aux spécifications et à la conception de l'équipement sans avis préalable.

Etat :
Avril 2013,
Sartorius Stedim Biotech GmbH,
Goettingen, Allemagne

Imprimé en Allemagne sur papier blanchi sans chlore. | W
N° de publication : SLL6006-f13042
N° de commande : 85032-541-55
Ver. 04 | 2013